

De- und Remineralisation von Zahnhartsubstanz unter Anwesenheit  
von antibakteriellen Füllungswerkstoffen  
(Untersuchungen in einem biofilmbasierten In-vitro-Kariesmodell)

Mzekala Tsotsoria



München 2012

Aus der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. dent. R. Hickel

De- und Remineralisation von Zahnhartsubstanz unter Anwesenheit  
von antibakteriellen Füllungswerkstoffen  
(Untersuchungen in einem biofilmbasierten In-vitro-Kariesmodell)

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnmedizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Mzekala Tsotsoria

aus

Tbilisi, Georgia

2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
Der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Karl-Heinz Kunzelmann

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Daniel Edelhoff  
Priv. Doz. Dr. Ekaterini Paschos

Mitbetreuung durch den  
Promovierten Mitarbeiter: entfällt

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 31.01.2012

*Für meine Tochter*

## **Inhaltverzeichnis**

<b>1. Einleitung</b> .....	8
<b>2. Literaturübersicht</b> .....	13
<b>2.1 Problematik „Re-Dentistry“</b> .....	13
2.1.1 Rezidivierende Karies .....	14
2.1.2 Sekundärkaries .....	14
2.1.2.1 Lokalisation .....	16
2.1.3 Diagnostische Schwierigkeiten bei Sekundärkaries.....	17
<b>2.2 Kariesätiologie</b> .....	21
2.2.1 Kariogene Bakterien.....	22
2.2.1.1 Laktobazillen.....	22
2.2.1.2 Mutans-Streptokokken.....	24
2.2.2 Pellikelbildung und bakterielle Adhäsion.....	27
<b>2.3 In-vitro-Modelle zur Kariesforschung</b> .....	29
<b>2.4 Antibakterielle Adhäsive – neuer Trend in der protektiven Füllungs- theraphie</b> .....	33
<b>2.5 Das MDPB Monomer als Gegenstand der aktuellen Forschung</b> .....	38
<b>3. Ziele und Fragestellung</b> .....	47
<b>4. Material und Methode</b> .....	49
<b>4.1 Methodik</b> .....	49
4.1.1 Zahnproben.....	49
4.1.2 Gruppenverteilung.....	50
4.1.3 Künstliche Alterung der Zähne.....	53
4.1.3.1 Termocycling.....	53
4.1.3.2 Kausimulation.....	54

4.1.4 Lagerung von gefüllten Zahnproben.....	55
4.1.5 Simulation von Black-Klasse II Restaurationen.....	55
<b>4.2 Künstliche Mündhöhle.....</b>	<b>56</b>
4.2.1 Reaktionsgefäß.....	56
4.2.2 Brutschrank.....	59
4.2.3 Schlauchpumpen.....	60
<b>4.3 Medien.....</b>	<b>62</b>
4.3.1 Künstlicher Speichel.....	62
4.3.2 Menschlicher Speichel.....	62
4.3.3 Saccharose Lösung.....	63
4.3.4 Bakterielle Suspension.....	63
<b>4.4 Erzeugung sekundärkariöser Läsionen.....</b>	<b>64</b>
<b>4.5 Untersuchungsabschnitt I :</b>	
Eignung der gewählten Versuchsanordnung für die Erzeugung von sekundärkariöser Läsionen und Bestimmung der Versuchsdauer.....	66
4.5.1 Überprüfung der Stoffwechselaktivität der Plaque.....	67
<b>4.6 Untersuchungsabschnitt II und III:</b>	
Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundärkariösen Läsionen.....	68
<b>4.7 Messungen in Mikro-CT (Mikrokomputertomography) .....</b>	<b>68</b>
4.7.1 Funktionsprinzip von $\mu$ CT.....	68
4.7.2 Durchführung der $\mu$ CT Messungen.....	70
4.7.3 Beurteilung der $\mu$ CT-Bilder für die Auswertung.....	71
4.7.4 Auswertung der $\mu$ CT-Schnittbilder.....	72
4.7.4.1 Berechnung des Mineralverlustes (delta Z).....	76
<b>4.8. Statistische Auswertungen.....</b>	<b>77</b>

4.8.1 Untersuchung I.....	78
4.8.2 Untersuchungen II und III: .....	79
<b>5. Ergebnisse.....</b>	<b>81</b>
<b>5.1 Visuelle Beurteilung der Ergebnisse.....</b>	<b>81</b>
5.1.1 Künstliche Alterung der Zähne.....	81
5.1.2 Plaquewachstum.....	82
5.1.2.1 Überprüfung der Stoffwechselaktivität der Plaque.....	83
5.1.3 Bildung kariöser Läsionen.....	84
5.1.4 Visuelle Beurteilung der $\mu$ CT Aufnahmen.....	86
5.1.4.1 Randspaltbildung.....	86
5.1.4.2 Artefakten.....	87
<b>5.2 Untersuchungsabschnitt I:</b>	
Eignung des Mundsimulators zur Erzeugung sekundärkariesähnlicher Demineralisationen und Bestimmung optimaler Versuchsdauer.....	88
<b>5.3 Untersuchungsabschnitte II und III:</b>	
Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundärkariösen Läsionen.....	91
<b>6. Diskussion.....</b>	<b>96</b>
<b>6.1. Diskussion von Material und Methoden.....</b>	<b>97</b>
6.1.1 Übertragbarkeit von der gewählten In-vitro-Versuchsanordnungs- auf In-vivo-Bedingungen.....	97
6.1.1.2 Die verwendete künstliche Mundhöhle.....	102
6.1.1.3 SY6TO 9 / Propidiumiodid-Färbung.....	108
6.1.2 Auswahl der Testzähne.....	109
6.1.3 Auswahl von Referenzprodukten.....	111
6.1.3.1 Glasionomerzement.....	111

6.1.3.2 Adhäsive.....	111
6.1.3.3 Komposit.....	112
6.1.4 Kavitätenpräparation und Fülltechnik.....	113
6.1.5 Künstliche Alterung der Proben.....	115
6.1.6 Lagerung im künstlichen Speichel.....	117
6.1.7 Mikrocomputertomographie ( $\mu$ Ct) .....	118
<b>6.2 Diskussion der Ergebnisse.....</b>	<b>120</b>
6.2.1 Untersuchungsabschnitt I.....	120
6.2.1.1 Eignung der künstlichen Mundhöhle.....	120
6.2.1.2 Bestimmung der optimalen Versuchsdauer.....	121
6.2.2 Untersuchungsabschnitt II und III.....	125
6.2.2.1 Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundär- kariöser Läsionen.....	125
6.2.2.2 Überprüfung der Ergebnisse .....	134
<b>7. Schlussfolgerung .....</b>	<b>136</b>
<b>8. Zusammenfassung.....</b>	<b>138</b>
<b>9. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>142</b>
<b>10. Anhang.....</b>	<b>162</b>
<b>11. Danksagung.....</b>	<b>175</b>

## **1. Einleitung**

Bis heute gilt die Sekundärkaries, unabhängig vom verwendeten Restaurationsmaterial, als Hauptgrund für das Misslingen von Restaurationen (Kidd et al. 1992; Mjör et al. 1992; 2002; Friedl 1995; Manhart 2003).

Trotz aller vorgeschlagenen Verarbeitungs- und Inkrementtechniken der Restaurationsmaterialien und dem Einsatz neuer Dentinadhäsiven haben die meisten Materialien, die zur Restauration von Zähnen verwendet wurden, ihre Schwachpunkte entlang des Überganges zwischen Zahn und Restauration (Flessa et al. 1994; Mehl et al. 1994; Roulet 1994(a)).

Durch Kontraktion beim Polymerisationsvorgang bzw. durch mechanische und chemische Belastung weisen Füllungen häufig im Dentinbereich einen Spalt auf (Flessa et al. 1994). So ergibt sich für die Mikroorganismen eine Invasionsmöglichkeit ins Zahninnere. Die Folge davon ist eine bakterielle Infektion des Dentins und Sekundärkaries, des Weiteren sind Pulpenschädigungen, Randverfärbungen und der Füllungsverlust möglich (Flessa et al. 1994; Schmalz et al. 2004(a); Nover 2000).

Da bis heute das Problem noch nicht sicher gelöst ist, stellt sich die Frage, welches Material sich für eine dauerhafte Versorgung der Kavität eignet.

Um der Bildung einer Sekundärkaries entgegenzuwirken, wurden vielfältige Anstrengungen unternommen, Füllungsmaterialien zu entwickeln, die sowohl eine dauerhafte Applikation erlauben, als auch eine kariesprotektive Wirkung besitzen.

Nach dem gescheiterten Versuch der Fluoridzugabe zu Amalgam (Hurst & Fraunhofer 1978; Fazzi et al. 1977) und einer emotional geführten Diskussion bezüglich toxikologischer, allergologischer und ökologischer Wirkung der Amalgamfüllungen (Lussi et al. 1989; Schiele 1997) brachte die Markteinführung der so genannten Glasionomere (GIZ) Anfang der 70er durch Wilson und Kent (1972) neue Hoffnung in der Zahnmedizin.

Neben ihrer einfachen Verarbeitung (Bauer et al. 1996) werden GIZ vor allem wegen ihrer hohen, lang andauernden Fluoridabgabe (Forsten 1990; 1991; 1994) und damit einhergehenden Sekundärkarieshemmung geschätzt. So zeigte sich in klinisch kontrollierten Studien bei GIZ-Füllungen wenig Sekundärkaries (Krämer et al. 1994; Mjör 1996; Benelli et al. 1993).

Trotz der viel versprechenden kariesprotektiven Wirkung ist diese Materialgruppe aufgrund ihrer physikalischen Eigenschaften, verminderter Bruch-, Abrasions- und Druckfestigkeit (Attin et al. 1996; Pelka et al. 1996), für eine definitive Versorgung von Kaulast tragenden Seitenzähnen nicht geeignet.

Auch die schrittweise eingesetzten Trends, metallverstärkten GIZ (MGIZ), kunststoffmodifizierten GIZ (KGIZ), hochviskose GIZ (HGIZ), die bessere Materialeigenschaften mit sich bringen sollten, konnten den hohen Erwartungen der modernen Zahnmedizin nicht gerecht werden (Forss et al. 1991; Nicholson 1997; Pelka et al. 1996; Forsten 1995; Frankenberger & Krämer 1999). Heute ist der Einsatzbereich dieser Materialien ausschließlich auf die Milchzahnfüllungstherapie, die semipermanente Versorgung in beiden Dentitionen und das Befestigen

indirekter Restaurationen beschränkt (Attin et al. 1996; Frankenberger & Krämer 1999; Ayad et al. 1998; Nicholson 1997; Krämer et al. 1994;).

Zur Restauration zerstörter Zähne werden als Alternative zu Amalgam seit Jahren preisgünstige adhäsive Füllungstechniken angewendet (Hickel 1997; Roulet 1994; Spreafico et al. 2005; Gaengler et al. 2001).

Für die klinische Anwendung von Kompositfüllungen sprechen ihre akzeptable Biokompatibilität und ihr schmelz-ähnlicher Verschleiß (Krejci et al. 1995; Leinfelder 1995; Schmalz 1998). Eine Vielzahl von Studien und Untersuchungen berichten über ihren Erfolg (Gaengler et al. 2001; Spreafico et al. 2005), jedoch sind auch die Schwachpunkte dieser Materialien nicht zu übersehen. Die ausgeprägte Polymerisationsschrumpfung der Kompositfüllungen führt regelmäßig zu Randspalten im Dentinbereich (Gladys et al. 2001), wodurch eine klebende Verankerung der Kompositfüllung mit den Zahnhartsubstanzen zwingend erforderlich wird. Die Einführung und stetige Weiterentwicklung von Säure-Ätz-Techniken (Bounocore 1955) und Dentinadhäsivsystemen (Haller 1994) ermöglichten das Angebot von ästhetisch akzeptablen und dauerhaft haltbaren Kompositfüllungen. Infolge der guten klinischen Ergebnisse (Perdigao et al. 2003; Türkün 2003) ist heute eine restaurative Zahnmedizin ohne den Einsatz von geeigneten Adhäsivsystemen fast nicht mehr vorstellbar. Ungeachtet der in der Adhäsivenfüllungstherapie erzielten Fortschritte wird die durch ungenügende Adhäsion auftretende Sekundärkaries, hauptsächlich im kaulasttragenden Seitenzahnbereich, als Hauptnachteil von Kunststofffüllungen betrachtet (Frankenberger 2001).

Neben Verfahren zum Legen primär randspaltfreier Füllungen kommt dabei Überlegungen eine besondere Rolle zu, in die Adhäsivsysteme karieshemmende Bestandteile zu integrieren. Auf diese Weise soll, auch wenn Randspalten auftreten, die Entstehung der Sekundarkaries gehemmt werden.

Nach Peutzfeldt (1997) ist der bisher interessanteste Ansatz das antibakterielle Monomer 12-Methacryloyloxydodecylpyridiniumbromid (MDPB), das von einem antibakteriellen Mittel des quaternären Ammoniums und einer Methacryloyl Gruppe synthetisiert wurde. Die Entwicklung des antibakteriellen Monomers MDPB begann 1994 (Imazato et al. 1994). Im Jahr 2004 folgte die Vermarktung des ersten antibakteriellen und fluoridhaltigen Adhäsivsystems für konservierende Zahnheilkunde. Clearfil Protect Bond (Kurarey Medical Inc., Okayama, Japan) ist ein verbesserter Typ von Clearfil SE Bond (Kurarey Medical Inc. Okayama, Japan) und besteht aus einem selbstätzenden Primer und einem Bonding. Die antibakterielle Wirkung des Moleküls MDPB ist in den Primer eingebaut. Dieses Material zeigte in bisher veröffentlichten In-vitro-Studien überwiegend positive Ergebnisse: Es ist stark breitbandantibakteriell (Imazato et al. 1998; Imazato et al. 1997; Imazato et al. 2001; Schmalz et al. 2004(a), zeigt hohe Haftung an der Zahnhartsubstanz (Celik et al. 2006; Korbmacher et al. 2006; Chieffi et al. 2009; Chieffi et al. 2005; Holzmeier et al. 2008) und es treten keine unerwünschten zelltoxischen Nebeneffekte auf (Imazato et al. 1999(a); Imazato et al. 2000; Koulaouzidou et al. 2008; Gurpinar et al. 2006).

Clearfil Protect Bond hinterlässt anschließend eine veränderte Oberfläche in der Region des marginalen Randspaltes, die eine weitere Anlagerung von Bakterien verhindern (Imazato et al. 2003a; Rolland et al. 2008) und so zum Langzeitschutz

vor Sekundärkaries beitragen soll. Durch gründliche und tiefe Desinfektion mit dem antimikrobiellen Monomer im Primer werden die Kavitäten von potenziell noch vorhandenen überlebensfähigen Bakterien gereinigt (Imazato 2004; Feuerstein et al. 2007). Daher erwartet Gros, dass nicht nur Residualkaries, sondern auch durch Mikroleakage verursachte Sekundärkaries verhindert bzw. deren Progression verlangsamt wird (Imazato 2003; Kaneko et al. 2001; Imazato et al. 1998). Das antibakterielle Adhäsiv verspricht, das zentrale Problem der restaurativen Zahnmedizin, die Kosten verursachende „Re-Dentistry“, zu lösen. Ziel dieser Studie ist es, in vitro unter Berücksichtigung der In-vivo-Bedingungen, Fähigkeiten dieses antibakteriellen Adhäsivs im Vergleich zu einem Glasionomerzement (Fuji IX) im Kampf gegen Sekundärkaries aufzuzeigen. Daher soll eine Versuchsanordnung konzipiert, gebaut und erprobt werden, mit welcher das orale Milieu möglichst genau nachgeahmt werden kann.

## **2. Literaturübersicht**

### **2.1 Problematik „Re-Dentistry“**

Das Ersetzen von bestehenden Füllungen nimmt 50 - 70% der restaurativen Zahnbehandlung in Anspruch und gehört somit zu den täglichen Hauptaufgaben in der Zahnarztpraxis. Mit Abstand am häufigsten wird die Sekundärkariesbildung durch Randspalten als Erneuerungsgrund für Füllungen angegeben (Kidd et al. 1992; Mjör et al. 1992; 2002; Friedl et al. 1995; Wilson et al. 1997; Manhart 2003).

Während der Behandlung können in der Kavität verbliebene Bakterien noch eine weitere Ursache für die Erneuerung der Füllung darstellen (Terashima et al. 1969; Zavareh & Yazdizadeh 2008).

Der Austausch einer alten Füllung führt zur Vergrößerung der Kavität und schwächt zusätzlich den Zahn. Außerdem ist von größeren Restaurationen im Vergleich zu kleineren Füllungen eine kürzere Lebensdauer zu erwarten. (Brantley et al. 1995). Letztlich können bakterielle Infektionen die Vitalität der Pulpa (Frankenberger et al. 2001; Nover 2000) und sogar das Überleben des Zahnes gefährden. Anders gesagt, die Indikation zur Erneuerung einer Füllung bedeutet für den Patienten weitere Belastungen und Risiken und verursacht zusätzliche Kosten.

### 2.1.1 Rezidivierende Karies

Als Kariesrezidiv wird das Fortschreiten der Karies unter einer Restauration definiert. Dies geschieht, wenn die kariös infizierten Zahnhartsubstanzen während der Erstbehandlung nicht vollständig entfernt wurden. (Terashima et al. 1969; Fusayama & Terashima 1972)

Viele Studien weisen daraufhin, dass die Karies an der Schmelz-Dentin-Grenze mit subjektiven Methoden oft nicht erkannt und visuell und taktil übersehen wird (Terashima et al. 1969; Zavareh & Yazdizadeh 2008). Vor allem bei Kindern besteht die Unsicherheit, ob die Karies wirklich komplett sauber entfernt werden konnte, da die mangelnde Compliance der kleinen Patienten das saubere Exkavieren des kariösen Gewebes erschwert (Boer 2006). Daraus ergibt sich das Risiko, dass sich die Karies unter der Restauration ausbreitet (Terashima et al. 1969).

Ein anderer Grund für das Wiederaufflammen der Karies kann an der Schmier-schicht, die während der mechanischen Präparation der Kavität entsteht, liegen. In der Schmierschicht enthaltene Bakterien können überleben, sich vermehren und zum Kariesrezidiv führen, wenn die Füllung undicht ist (Swift et al. 1995).

### 2.1.2 Sekundärkaries

Die Sekundärkaries ist ein völlig neuer kariöser Vorgang, der sich im Randbereich von zahnärztlichen Restaurationen entwickelt (Mjör & Toffenetti 2000).

Die ätiologischen Faktoren der Sekundärkaries gleichen denen der Primärkaries.

Histomorphologisch zeigt Sekundärkaries alle klassischen Kennzeichen primärkariöser Defekte im Schmelz und Dentin. Wie auch bei einer Primärkaries deuten charakteristische Verfärbungen oder eine Kavitation auf Sekundärkaries hin. Klinisch ist also ein Unterschied zwischen Primär- und Sekundärkaries lediglich nur durch die Existenz des Spaltraumes zwischen Füllung und Kavitätenwand festzustellen (Kröncke 1981; Kidd 2001).

Hals und Kvinnsland (1974) unterscheiden bei der Sekundärkaries zwischen einer äußeren und einer inneren Läsion (Kavitätenwandläsion).

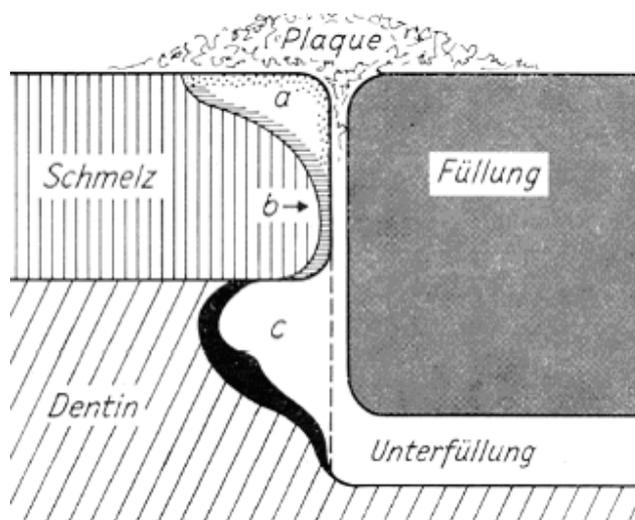


Abbildung 2.1.2: Schematische Darstellung der Sekundärkaries (Kröncke 1981)

a) äußere Läsion; b,c) innere Läsion (Kavitätenwandläsion)

Die Außenläsion befindet sich auf der Zahnoberfläche in unmittelbarer Nachbarschaft zur Füllung und entspricht im Wesentlichen der Entwicklung der Primärkaries, die sich unter einer mehr oder weniger intakten Oberfläche ausbreitet, wobei als erster klinischer Hinweis eine typische „White-spot“-Läsion entsteht. Aus

dieser wird letztlich - als Folge der Demineralisation - eine kariöse Kavität resultieren.

Die Entwicklung von einer Kavitätenwandläsion hängt von existierenden Randspalten ab (Hals und Kvinnsland 1974). Bakterien, Flüssigkeit, Moleküle oder Wasserstoffionen dringen in den Spalt zwischen Füllung und Kavitätenwand ein: Man spricht von „Microleakage“. Dieser Prozess lässt sich klinisch nicht nachweisen (Kidd et al.1989). Es wird angenommen, dass Sekundärkaries als eine penetrierende Entkalkungszone an dem Füllungsrand entlang fortschreitet, der zunächst als klinisch intakt erscheint. Erst wenn Karies den Dentinbereich erreicht hat, kommt es wegen einer organischen Grundsubstanz zur beschleunigten Demineralisation und der sekundärkariöse Defekt weitet sich aus (Huster 1991).

Kidd et al. (1992) demonstrierten an extrahierten Zähnen, dass Außen- und Kavitätenwandläsionen zusammen oder unabhängig voneinander auftreten können.

#### *2.1.2.1 Lokalisation*

Statistische Angaben zeigen, dass die Karies an den zervikalen und approximalen Seitenrändern häufiger als an den schneidenden oder occlusalen Oberflächen wiederkehrt (Mjör 1985; Mjör & Toffenetti 2000). Als Ursache dafür werden Materialeigenschaften von Restaurationen, eingeschränkte klinische Diagnosemöglichkeiten und Hygiene-Schwierigkeiten, die mit dem Approximalbereich des Zahnes verbunden sind, angesehen (Mjör & Toffenetti 2000).

Die über 10 Jahre andauernden Beobachtungen von Gaengler et al. (2001) an ein- und mehrflächigen Kompositfüllungen im Seitenzahnbereich haben gezeigt, dass Sekundärkaries bevorzugt im Bereich von Black-Klasse-II-Restaurationen vorkommt. Dennoch ist die klinische Manifestation von Sekundärkaries nicht auf Black-Klasse-II-Füllungen beschränkt, die zervikalen Ränder von Black-Klasse-III-IV- und V-Restaurationen sind ebenso oft betroffen (Mjör & Toffenetti 2000).

### 2.1.3 Diagnostische Schwierigkeiten bei Sekundärkaries

Die Diagnose von Sekundärkaries wird durch die topografische Lage erschwert. Da Sekundärkaries überwiegend im Approximalbereich vorkommt und die Kavitätenwandläsion zunächst verdeckt verläuft, wird Sekundärkaries mittels Observation nur im fortgeschrittenen Stadium durch starke Verfärbung oder schon entstandene Kavitation erkannt, wenn nicht das Röntgenbild als Hilfsmittel hinzugezogen wird. Röntgenaufnahmen aber können bei den restaurierten Seitenzähnen falsch interpretiert werden, denn der dunkle Schatten am zervikalen Rand von approximalliegenden Füllungen kann auch durch falsche Angulation des Films oder der Röntgenröhre entstanden sein. Daher kann die Diagnose von Karies in diesem Bereich nur dann sicher konstatiert werden, wenn man die älteren Bissflügelaufnahmen mit jüngeren vergleicht. Mithilfe eines routinemäßigen Einsatzes von Filmhaltern sollen derartige diagnostische Fehlleistungen ausgeschlossen werden (Newbrun et al. 1993).

Sogar die modernen Untersuchungsmethoden wie FOTI (faseroptische Transillumination), QLF (quantitative light-induced laser fluorescence) oder das Diagno-

dent-Gerät (Fluoreszenzmessgerät) stellen keine zuverlässigen Diagnosemethoden für Sekundärkaries dar.

Gegen den Einsatz von FOTI für Dentinkariesdiagnostik im Approximalbereich spricht die Tatsache, dass der Lichtweg approximal im Zahnschmelz ziemlich lang ist, außerdem erschweren die Restaurationen eine Durchleuchtung. Daher kann man mit dieser Methode Dentinkaries unter zahncfarbenen Füllungen nur im Frontzahnbereich bedingt feststellen (Newbrun et al. 1993).

Bei Anwendung der QLF-Methode sind schmelzbegrenzte Approximalläsionen grundsätzlich schwierig zu erfassen, „da aus jeder möglichen Betrachtungsrichtung (bukkal, oral und okklusal) das Dentin als die hauptsächliche Fluoreszenzquelle fehlt. Da weiterhin die Fluoreszenz des Zahnschmelzes nur gering ist, wird die Differenz in der Fluoreszenzintensität und damit der Kontrast zwischen gesunder und initial kariöser Zahnhartsubstanz nach bukkal, oral und okklusal ebenfalls gering ausfallen.“ Darüber hinaus es ist schwierig den Zahnzwischenraum aus derselben Richtung zu beleuchten und gleichzeitig zu betrachten. Folglich eignet sich die QLF-Methode weder zur Kariesdiagnostik im Approximalzahnbereich noch zur Erkennung kariöser Läsionen unter vorhandenen Restaurationen (Kühnisch et al. 2002).

Das Diagnodent-Gerät ist viel handlicher als QLF, „es kann nahezu wie eine zahnärztliche Sonde über die Zahnoberfläche geführt werden und durch Kippen und Drehen ermöglicht es, alle Aspekte einer Fissur zu untersuchen.“ Dadurch konnten zahlreiche Probleme, die mit QLF-Messungen verbunden waren, vereinfacht werden. Dennoch ist Diagnodent nicht immer aussagekräftig: Beläge

oder Verfärbungen auf den Zähnen können Ergebnisse beeinflussen. Versiegelungen oder Füllungen können zu falschen bzw. zu hohen Werten führen. Außerdem stellt Kunzelmann (2003) die Überzeugungskraft der Methode hinsichtlich des Bakteriennachweises in Frage und meint, dass im günstigsten Fall diese Methode nur über das Vorhandensein von Bakterien eine Aussage treffen kann, wobei ungeklärt bleibt, ob es sich um eine aktive- oder inaktive- Karies handelt. Daher wird auch hier empfohlen „die Entscheidung zur Invasivtherapie nicht auf Grundlage eines aktuellen Messwertes ( $30 < /$  nach Herstellerempfehlungen), sondern auf der Grundlage einer deutlichen Zunahme des Messwertes zu verschiedenen Zeiten“ zu fällen (Kunzelmann 2003).

Die Differenzierung zwischen einer Sekundärkaries und einem kariesinaktiven oder verfärbten Randspalt ist klinisch häufig nicht möglich, da derzeit noch klinisch eindeutige, eine sichere Diagnose zulassende Kriterien fehlen (Kidd & Beighton, 1996).

Obwohl die Entstehung von Randspalten für die Entwicklung der Kavitätenwandläsionen verantwortlich gemacht wird (Hals & Kvinnsland 1974; Frankenberger 2001; Frankenberger et al. 2001), bedeutet dies nicht, dass ein verfärbter klinisch sichtbarer Randspalt bereits auf eine entstandene Kavitätenwandläsion hindeutet. Kidd et al. (1995) untersuchten Plaque- und Dentin-Proben aus den Randspalten und konnten keinen Zusammenhang zwischen Randverfärbung und bakterieller Besiedlung feststellen (Kidd et al. 1995). Auch in einer weiteren klinischen Studie konnten Kidd und Beighton (1996) keine Korrelation zwischen existierenden Randspalten und einer Infektion des darunter liegenden Dentins konstatieren. Gemäß den Erkenntnissen der oben genannten

Forschungsgruppen sollten schmale Randspalten ( $< 0,4$  mm) und Verfärbungen an Füllungsändern allein nicht ausschlaggebend für den Austausch von Amalgam (Kidd et al. 1995) oder zahnfarbenen Restaurationen (Kidd & Beighton 1996) sein. Die Zähne tolerieren also in gewissem Umfang diese Mikrospaltbildung. Dennoch wurde in den Untersuchungen von Eriksen et al. (1986) und Goldberg et al. (1981) gezeigt, dass das Sekundärkariesrisiko bei abnehmender Randqualität steigt. Gleichzeitig aber wurde nachgewiesen, dass ein signifikant höheres Risiko mit einer schlechten Plaquekontrolle und allgemein erhöhtem Kariesrisiko korreliert. Klinisch betrachtet bleibt ungeklärt, ab wann die Spaltbildung nicht mehr akzeptierbar ist (Roulet 1994a). Gemäß Kidd und Beighton, (1996) kann die eindeutige Diagnose einer Sekundärkaries nur dann gestellt werden, wenn eine offensichtliche kariöse Läsion am Füllungsrand vorliegt.

In der Kavität verbliebene Karies muss nicht zwingend zum Kariesrezidiv führen. Unter bestimmten Voraussetzungen, wie einer guten marginalen Adaptation von Restaurationen und gleichzeitiger guter Plaquekontrolle, kann unvollständig entfernte Karies auch zum Stillstand kommen. Klinische Kriterien für eine Wiederöffnung der Kavität existieren jedoch nicht. So könnte das Kariesinaktive einem anderen Behandler als eine Sekundärkaries erscheinen und die Füllung als erneuerungsbedürftig (Kidd 1989; Kidd et al. 1995). Interessant dabei ist auch, dass die den behandelnden Zahnarzt oft wechselnden Patienten mehr Restaurationen verzeichnen als die stets denselben Zahnarzt konsultierenden Patienten (Sheiham et al. 1985). Es ist deshalb davon auszugehen, dass Füllungen ersetzt werden, weil angenommen wird, es würde Sekundärkaries vorliegen. Allerdings wird die Indikation zur Erneuerung häufiger gestellt bei einer alio loco angefertigten Restauration (Friedl et al. 1995; Mjor & Toffenetti 1992; Wilson et al. 1997).

Wenn aber andererseits die Indikation zur Füllungserneuerung aufgrund der unzuverlässigen klinischen Diagnose von Sekundärkaries zu spät gestellt wird, kann dies sogar zum Vitalitätsverlust von Zähnen führen.

## **2.2 Kariesätiologie**

Die ätiologische Bedeutung von Bakterien bei der Entwicklung der Zahnkaries ist lange bekannt (Clarke 1924; Miller 1892) und heutzutage unumstritten (Hellwig et al. 1999; Marsh & Martin 1999; Sanderink 2005). Karies wird als lokalisierter pathologischer Vorgang bakteriellen Ursprungs definiert, die zur Zerstörung der Zahnhartsubstanzen und letztlich zur Kavitation führt (Hellwig et al. 1999; Klimm 1997).

Bereits Ende des neunzehnten Jahrhunderts definierte Miller die chemoparasitäre Theorie der Kariesentstehung. Diese besagt, dass kariogene Mikroorganismen der Mundhöhle niedermolekulare Kohlenhydrate enzymatisch abbauen unter Produktion der organischen Säuren, welche die Zahnhartsubstanzen demineralisieren (Miller 1892; Hellwig et al. 1999). 70 Jahre später wurde diese Theorie von Keyes verifiziert und erweitert. Er postulierte, dass Karies aus einem Zusammenspiel von kariogenen Mikroorganismen als Säurelieferanten, niedermolekularen Kohlenhydraten als Substraten und der Zahn als Wirtsfläche entsteht (Keyes 1962). Im Jahr 1971 fügte König den vierten Faktor, die zeitliche Exposition, hinzu, denn eine Zerstörung der Zahnhartsubstanzen entsteht erst nach häufigen bzw. lang anhaltenden Säureangriffen.

Heutzutage werden auch weitere Faktoren, wie die Zusammensetzung, der pH-Wert, die Pufferkapazität und Fließrate des Speichels, ebenso wie Zahnfehlstellungen und Anomalien, daneben auch sozioökonomische und verhaltensbezogene Kriterien in die Kariesentstehungstheorie miteinbezogen (Hellwig et al. 1999).

### 2.2.1 Kariogene Bakterien

In der Mundhöhle lassen sich mehr als 300 verschiedene Bakterienarten nachweisen (Listgarten 1987). Heutzutage weist man aber daraufhin, dass nicht jede Plaque in der Lage ist, Karies zu verursachen. Schiffner (1997) charakterisiert eine kariogene Mikroflora als „speziell zusammengesetzte mikrobielle Flora, die durch bestimmte Milieubedingungen aus der mikrobiellen Mundflora entsteht und sich durch hohe Säuretoleranz, den schnellen Transport von Zuckern in die Bakterienzellen und deren rasche Verstoffwechslung auszeichnet“.

Als Leitkeime für die Karies gelten Streptokokken (*S. mutans* und *S. sobrinus*) sowie Laktobazillen (Fethearstone et al. 2003). Beide Arten sind nicht nur azidogen (starke Säurebildner), sondern auch azidophil (säureliebend), d. h., dass sie bei niedrigen PH-Werten überleben, Stoffwechsel betreiben und sich weiter vermehren können (Marsh & Martin 1999).

#### 2.2.1.1 Laktobazillen

Laktobazillen sind stark säurebildende Organismen, die entweder nur Lactat oder Lactat und Acetat aus Glucose bilden. Nach diesen Eigenschaften werden

Laktobazillen in homo- und heterofermentative Arten unterteilt. *L. casei*, *L. fermentum*, *L. acidophilus* gehören zu den häufigsten Arten. Laktobazillen machen weniger als 1 % der gesamten Mundmikroflora aus. Dennoch werden sie häufig aus den kariösen Läsionen isoliert (Marsh & Martin 1999). Aus diesem Grund wurden bis in die 50er Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts unter anderem auch Laktobazillen als Auslöser der kariösen Erkrankung angesehen.

Johnston et al. (1933) zeigten im Tierversuch, dass Zucker in der Diät kariesfreier Tiere nicht zur Zunahme der Keimzahlen von Laktobazillen führte, womit sie die Bedeutung der Laktobazillen relativierten.

Heutzutage ist bekannt, dass Laktobazillen an den Zahnflächen nicht haften können und zu den Schleimhautparasiten gehören (Carlsson et al. 1975; Gibbons & van Houte 1980).

Laktobazillen sind eher für das Fortschreiten von kariösen Läsionen verantwortlich und nicht für das Auslösen von kariöser Erkrankung (van Houte 1980; Loesche 1986). Der Grund dafür, dass ihr Anteil und ihre Prävalenz in fortgeschrittenen kariösen Läsionen zunehmen, ist in der außerordentlichen Säuretoleranz dieser Bakterien zu sehen. (Loesche 1986; Marsh & Martin 1999). „Ein hoher Laktobazillen-Gehalt des Speichels gilt als Hinweis auf kariöse Läsionen“ (Schiffner 1997).

### 2.2.1.2 Mutans-Streptokokken

Streptokokken gehören zu den grampositiven Kokken. Sie machen einen großen Anteil der oralen Residentmikroflora aus. Die oralen Streptokokken sind in vier Hauptgruppen unterteilt:

- S. Mutans -Gruppe
- S. Salivarius-Gruppe
- S. Anginosus-Gruppe
- S. Mitis-Gruppe

Für die Kariesaktivität am bedeutendsten sind die Arten der S.Mutans-Gruppe. (Marsch & Martin 1999) Diese werden zusammenfassend auch mit dem Begriff „Mutans-Streptokokken“ bezeichnet (Schiffner 1997; Marsch & Martin 1999).

Acht Serotypen (a-h) werden anerkannt, die auf der serologischen Spezifität von Kohlenhydratantigenen in der Zellwand basieren. Die Unterschiede zwischen diesen Gruppen von Serotypen reichen aus, um sie in sieben verschiedene Arten zu unterteilen.

GRUPPE	ART
S.-Mutans –Gruppe	S.mutans, Serotypen c,e,f
	S.sobrinus, Serotypen d, g
	S.rattus, Serotyp b
	S. ferus, S.macacae
	S.downei, Serotyp h
	S.cricetus Serotyp a

Unter ihnen sind überwiegend nur die beiden Arten *S. mutans* und *S. sobrinus* humanpathogen, *S. cricetus* (Serotyp a) wurde bei Menschen sehr selten angetroffen. Die restlichen Arten von „Mutans-Streptokokken“ kommen nur bei Tieren vor.

Die Artbezeichnung *S. mutans* ist heute auf die menschlichen Isolate beschränkt (Marsh & Martin 1999) und wird von ca. 300 im Mund befindlichen Bakterienspezies (Listgarten 1987) am häufigsten angetroffen. Obwohl *S. mutans* von allen Stellen im Mund isoliert worden ist (Marsh & Martin 1999), kann er sich an Schleimhäuten nicht etablieren und ist vor allem auf den Zähnen nachzuweisen (Gibbons 1994).

*S. mutans* wurde von Clarke (1924) aus kariösen menschlichen Zähnen isoliert und aufgrund seiner ovalen Form für Mutanten der runden Streptokokken gehalten. Heute weist man aber daraufhin, dass sie ihre Form je nach metabolischem Aktivierungsgrad von den Kokken zu Stäbchen verändern (Sanderink 2005). Bis in die Sechzigerjahre wurde dieser Art wenig Aufmerksamkeit geschenkt; erst als man zeigte, dass nach *S. mutans*-Infektion und Verabreichung zuckerhaltiger Diät bei Versuchstieren kariöse Läsionen erzeugt werden können (Orland et al. 1954; 1955; Loesche 1986), wurden Streptokokken als Verursacher der Kariesauslösung angesehen.

Wegen seiner Stoffwechsellleistungen ist *Streptokokkus mutans* überaus bedeutend bei der Entstehung von Karies. Dabei gilt: Je früher und je mehr *Streptokokkus mutans* die Zahnflächen kolonisieren, desto größer ist die Kariesgefährdung (Loesche et al. 1984; Berkowitz 2003).

Die Kariogenität von *S. mutans* wird besonders durch die Vielzahl der Virulenzfaktoren bestimmt: 1. Mutans Streptokokken produzieren Säuren mit extremer Schnelligkeit, wenn im umgebenden Milieu Saccharose vorhanden ist. 2. Außer lösliche und unlösliche extrazelluläre, mit der Bildung von Plaque und mit Kariogenität in Verbindung gebrachten Polysaccharide (Glukane und Fruktane;) generieren Mutans Streptokokken auch intrazelluläre Polysaccharide aus Saccharose, dienend als Kohlenhydrat Reserven, die in Zeiten, in denen keine Kohlenhydrate aus der Nahrung verfügbar sind, in Säuren umgewandelt werden (Marsh & Martin 1999). 3. Durch Säureproduktion entsteht im Inneren der Plaque ein saures Milieu. Da *S. mutans* im Vergleich zu anderen oralen Keimen besonders säuretolerant ist kann er sich unter diesen Bedingungen optimal vermehren. Dadurch verschafft azidophiler *S. mutans* sich einen weiteren Selektionsvorteil unter Ausbildung einer kariogenen Flora (Bradshaw et al. 1989).

Die am zweithäufigsten isolierte Art von „Mutans Streptokokken“ ist *S. sobrinus* (Serotypen d und g) (Marsh & Martin 1999), der ebenfalls mit Zahnkaries beim Menschen in Verbindung gebracht wird. *S. sobrinus* ist der stärkste Säurebildner unter den Mutans-Streptokokken (Sanderink 2005), dennoch ist die Rolle, die *S. sobrinus* in der Kariesentstehung spielt, bis heute nicht endgültig geklärt, da in mehreren Studien nicht versucht wurde, zwischen den Arten *S. mutans* und *S. sobrinus* zu unterscheiden (Marsh & Martin 1999).

## 2.2.2 Pellikelbildung und bakterielle Adhäsion

Ihr Überleben in der Mundhöhle sichern Bakterien durch Adhäsion an Schleimhäuten oder Zähnen, anderenfalls würden sie durch Verschlucken eliminiert, ohne sich vermehren zu können (Schiffner 1997). Im Gegensatz von Laktobazillen können „Mutans Streptokokken“ sich auf Schleimhäuten nicht etablieren, daher hat für sie die Adhäsion an Zahnoberflächen entscheidende Bedeutung (Sanderink 2005). Bakterien kommen mit dem sauberen Schmelz sehr selten in Kontakt (Marsh & Martin 1999), denn kommt eine gereinigte Zahnoberfläche mit Speichel in Kontakt, ist sie in Sekundenschnelle mit Biopolymeren benetzt. (Busscher et al. 1984; Glantz et al. 1996). Dies beruht auf der selektiven Adsorption organischer Komponenten aus dem Speichel, wie sauren prolinreichen Proteinen, Glykoproteinen, Serumproteinen, Enzymen und Immunglobulinen. Die Benetzung führt zur Ausbildung einer dünnen (0,1 - 1 µm) elektronendichten Pellikelschicht (Hannig 1994; 1997).

Durch ihre Eigenladungen wird die Pellikel an die Kalzium- und Phosphatgruppen der Apatitkristalle und damit an die Zahnhartsubstanz elektrostatisch festgebunden. Bakterien der Mundhöhle ihrerseits binden sich über physikalisch-chemische Vorgänge an Pellikelproteine und somit auf die Zahnoberfläche (Ellen et al. 1997).

Strukturen, die an der bakteriellen Anheftung auf Seiten der Mikroorganismen beteiligt sind, bezeichnet man als Adhäsine, die bindenden Strukturen auf Seiten der Pellikel als Liganden oder Rezeptoren (Schiffner 1997). Eine große Anzahl von Adhäsinen repräsentiert sich durch Kohlenhydrat bindende Proteine, Lektine genannt, auf der Zelloberfläche. Auch von Bedeutung als Adhäsine sind Fimbrien,

in der Zelloberfläche verankerte lineare Polypeptide (Antigen-I-II-Familie), Glikosyltransferasen (GTfs) und Lipoteichonsäuren (LTA) der Bakterienzellwand sowie extrazellulär synthetisierte Polysaccharide (Marsh & Martin 1999).

In Abhängigkeit vom Abstand zwischen Bakterienzellwand und Pellikelprotein treten verschiedene Adhäsionsmechanismen auf: Für die erste Fixierung der Bakterien sind van der Waals- (über eine Distanz von bis zu 50 nm) und elektrostatische (Distanz von ca. 10 – 20 nm) Kräfte verantwortlich (Schiffner 1997). In einer Entfernung von 2 nm finden Wasserstoffbrückenbindungen, zwischen den Hydroxylgruppen in der Pellikel und den Phosphatgruppen in der Bakterienwand statt. Nach der initialen bakteriellen Adhäsion erfolgen spezifische kovalente Bindungen, Ionenbindungen und elektrostatische Interaktionen zwischen verschiedenen geladenen Partikeln von Liganden und Adhäsinen. Dies ermöglicht eine stärkere Haftung der Bakterien (Bagg et al. 1999; Schiffner 1997). Ferner werden durch Konformitätsänderungen der Moleküle weitere zuvor versteckte Bindungsstellen, so genannte Krytotope, bereitgestellt. Dies ermöglicht, dass weitere Proteinbindungen erfolgen und weitere Mikroorganismen an bereits angeheftete Bakterien anlagern (Aggregation) (Schiffner 1997). In weiteren synthetisieren Bakterien aus Saccharose eine Matrix aus extrazellulären Polysacchariden (EPS). Wesentliche Bestandteile dieser Matrix sind Dextrane, Glucane (Mutan) und Fructane (Lävan). Fructan dient als Nahrungsreservoir für die Mikroorganismen, wobei Dextrane und Glucane hochgradig visköse verzweigte Netzwerke bilden und fest an der Zahnoberfläche haften (König 1987; Marsh & Martin 1999). Dadurch wird die irreversible Anheftung der Mikroorganismen gesichert. Der Adhäsion folgt der schrittweise Aufbau eines strukturierten Biofilms, der dentalen Plaque.

### **2.3 In-vitro-Modelle zur Kariesforschung**

„Die Komplexität des Mundklimas und ethische Probleme, die mit der Untersuchung der menschlichen Mundkrankheiten verbunden sind, haben die Notwendigkeit der Entwicklung von Labormodellen, die den menschlichen Mund-Mikrokosmos simulieren, hervorgerufen“ (Tang et al. 2003).

Bereits im Jahr 1878 schlug Magitot vor, die Plaquebildung mittels Laborversuchen zu untersuchen. Am Anfang des 20. Jahrhunderts versuchten die Forscher, Tomes (1897) und Enright et al. (1932), die Rolle der verschiedenen Säuren, Salze, Proteine und Kohlenhydrate in der Kariesentstehung *in vitro* festzustellen. Diese Untersuchungen übersahen die wichtige Bedeutung von Bakterien im Kariesentwicklungsprozess und konnten keine Unterschiede zwischen künstlichen und natürlichen Läsionen definieren (Tang et al. 2003).

Es gibt grundsätzlich zwei Möglichkeiten zur Erzeugung kariöser Läsionen *in vitro*: die rein chemische oder durch Einsatz der Säure bildenden Mikroorganismen. Für die chemische Karieserzeugung werden meistens organische Säurelösungen wie Milchsäure, Essigsäure bzw. saure, untersättigte Kalzium- und Phosphatlösungen oder angesäuerte Gelsysteme eingesetzt.

Werden Demineralisationen *in vitro* ohne bakteriell bedingte Kollagendestruktion nur durch Einsatz rein chemischer Lösungsvorgänge erzeugt, so zeigen diese keine typischen Merkmale natürlicher Läsionen (Gernhardt 1997). Auch im Vergleich zu gelpräparierten artifiziellen Läsionen charakterisieren sich diese durch größere Ausdehnung (Damato et al. 1988). Außerdem kann durch Simulation von

kariesfördernden Bedingungen mittels angesäuerten Lösungen ein verstärktes Abgabeverhalten von Fluorid aus Glasionomerzement beobachtet werden (Forsten 1990; 1995; Schiffner et al. 2004). Künstliche Karies, die mithilfe angesäuerter Gelsysteme erzeugt wurde, ist zwar gut vergleichbar mit natürlichen Läsionen (Silverstone 1967, Kawasaki & Featherstone 1997), doch auch bei Verwendung dieser Methode zur Erzeugung der Demineralisationen im Dentinbereich, lassen sich natürliche Dentinläsionen ohne enzymatische Kollagendestruktion nicht vollständig simulieren (Phankosol et al. 1985).

In anderen Studien werden Zahnhartgewebeproben für einige Tage direkt in eine bakterielle Suspension platziert (Dummer et al. 1982; Gilmour et al. 1998; Gilmour et al. 1993). In solchen Versuchsanordnungen entfallen jedoch Phasen der Remineralisation, weshalb meist schon nach wenigen Tagen Demineralisationen zu erkennen sind. Die Vergleichbarkeit mit der intraoralen Situation ist unbefriedigend (Ten Cate & Duijsters 1982).

Die Modernisierungsprozesse dieser einfachen und grundlegenden In-vitro-Modelle haben heutzutage Fortschritte gemacht.

Im Jahre 1982 entwickelten Ten Cate und Duijster ein „pH-cycling“ Modell, dabei wurden bei Untersuchungen zum Demineralisationsverhalten die Veränderungen des intraoralen pH-Wertes im Hinblick auf Zeitintervalle nachvollzogen. Gleichzeitig wurde die Zusammensetzung der De- bzw. Remineralisationsmedien in vivo mit berücksichtigt (Ten Cate & Duijsters 1982). Durch automatisch getriebenen Ablauf der wechselnden Zyklen zwischen demineralisierenden Schüben und Remineralisationsphasen konnte der mit manueller Methode

verbundene hohe Arbeitsaufwand minimiert werden. Es wurde ermöglicht, die Untersuchungen mit erhöhter Zyklenzahl und ohne Unterbrechungen an Wochenenden durchzuführen (Ten Cate & Simons 1989). Jedoch bleibt auch hierbei der Einfluss von Speichel und Plaque unberücksichtigt (Ten Cate 1990).

Ein weiteres Modell zur experimentellen Karieserzeugung *in vitro* ist die künstliche Mundhöhle. Diese stellt eine apparative Versuchsanordnung dar, welche den menschlichen Mund-Mikrokosmos möglichst genau nachahmt. Im Wesentlichen besteht eine künstliche Mundhöhle aus einer temperaturkontrollierten Kammer, in der menschliche oder tierische Zähne oder Zahnhartsubstanzproben angebracht und kariögenen Bedingungen ausgesetzt sind (Klimek et al. 1982; Schiffner 1997; Hellwig et al. 1993). Dabei werden artefizielle Läsionen mithilfe kariogener Mikroorganismen erzeugt. Diese werden dazu direkt auf die zu untersuchenden Proben aufgebracht und durch Verabreichung von niedermolekularen Kohlehydraten (Schiffner 1997; Schiffner & Schmeiser 1995) oder Nährmedium zur artifiziellen dentalen Plaque gezüchtet. Gleichzeitig wird durch Zugabe von künstlichem (Klimek et al. 1982; Schiffner 1997) oder menschlichem Speichel (Sissons et al. 1985) für die Clearance von zugeführter Zuckerlösung, Bakterien und bakteriellen Stoffwechselprodukten gesorgt und natürliche intraorale De- und Remineralisationsphasen nachgeahmt (Schiffner 1997). Fließraten der Spüllösungen sind festgelegt und basieren je nach Untersuchungsmodell auf Durchschnittswerten der Gesamtsekretionsraten oder weichen davon ab.

Von Vorteil bei derartigen Versuchsanordnungen gegenüber *In-situ*-Modellen ist, dass die Durchführung der Untersuchungen nicht von der Compliance der Probanden abhängig ist und der Einfluss verschiedener Substanzen auf den

Kariesbefall beliebig getestet werden kann. was in vivo aus praktischen ebenso wie aus ethischen Gründen nicht möglich wäre (Schiffner 1997). Außerdem können kariogene Effekte der unterschiedlichen Bakterien einzeln (Noorda et al. 1986; Schiffner 1997) ebenso wie in beliebig zusammengesetzter (Bradshaw et al. 1989; McKee et al. 1985) Form untersucht werden.

In derartigen Studien kann auch direkt dem menschlichen Mund entnommene Plaque verwendet werden. Gegenüber dem artifiziellen Zahnbelag aber hat Plaque, die von Probanden gespendet wurde, folgenden Nachteil: Sie repräsentiert ein individuelles Keimspektrum, wobei nicht festzustellen ist, welchen Anteil die unterschiedlichen Keime eventuell an der Demineralisation der Zahnhartsubstanz haben. Darüber hinaus haftet bereits eine „fertige Plaque“ durch die bereits vorhandenen extrazellulären Polisaccharide sowie auch durch ihre Masse auf den Proben (Schiffner 1997). Dadurch werden spezifische und unspezifische Bakterianheftungsvorgänge überlagert und können im Kariesentstehungsprozess nicht berücksichtigt werden. .

„Künstliche Mundhöhlen sind zum Studium einzelner oder kombinierter Aspekte der Kariesätiologie sehr wertvoll“ (Schiffner 1997). So wurden sie z.B. erfolgreich zur Erforschung der Homöostase und Wechselwirkungen von Plaque (Coulter & Russell 1976; Hudson et al. 1986; Sissons et al.1991), des Einflusses und der Rolle des Speichels im Kariesentstehungsprozess (Schiffner 1997), zum Testen von Kariesprotektiven und antibakteriellen Mitteln (Pigman & Newbrun 1962; Cutress et al. 1995; Sissons et al.1995) und der Pathogenese von Grübchen , Fissuren (Katz et al.1986) eingesetzt.

Die Experimente werden unter Inanspruchnahme intraoraler Situation und Möglichkeiten der jeweils vorhandenen Apparatur entsprechend variabel gestaltet. Die zugrunde liegenden verschiedenen methodischen Ansätze besitzen je nach ihrer Zielstellung ihre Berechtigung. Das von Reeh et al. (1996) entwickelte Modell der künstlichen Mundhöhle ist in der Lage sogar Kaubelastungen zu simulieren. Dies zeigt, dass diese In-vitro-Modelle hinreichend flexibel und anpassungsfähig sind, um das komplizierte Mundklima nachahmen zu können (Tang et al. 2003). Künstliche Mundhöhlen erlauben es, Kariesentstehungsprozesse ebenso wie neu entwickelte dentale Materialien unter Berücksichtigung multifaktoreller Milieubedingungen zu untersuchen bis zum Übergang zu In-situ-Modellen.

Größter Nachteil dieser Modelle ist, dass diese Versuche mit einem hohen technischen und zeitlichen Aufwand verbunden bleiben (Krejci et al. 1990; Featherstone 1996), wobei sich mit In-situ-Modellen leichter Resultate erzielen lassen (Featherstone 1996).

## **2.4 Antibakterielle Adhäsive – neuer Trend in der protektiven Füllungs-therapie**

Seit den 90er Jahren hat auf dem Gebiet der Adhäsivtechnologie eine rapide Entwicklung stattgefunden. Die in der Zahnmedizinforschung angetretene Neuorientierung mit dem Ziel der Erhaltung eines vitalen und intakten Pulpa-Dentin-Komplexes und der Unterstützung regenerativer Prozesse im Zahninneren hat zum besseren Verständnis und folglich zur Verbesserung der Adhäsivmechanismen geführt (Heidemann et al. & DGZ Version 1).

Angeichts erzielter Erfolge werden Dentinadhäsive inzwischen als praxisreif betrachtet. (Staeble & Hickel 1998; Manhart 2003; Heidemann et al. & DGZ Version 1).

Neben hoher Haftung werden heutzutage an die Adhäsivsysteme weitere Anforderungen gestellt: Ein Adhäsiv muss nicht nur hohe Haftwerte erreichen, sondern darf keinesfalls zell- und pulpentoxische Nebenwirkungen aufweisen. Außerdem gewinnen im Sinne der präventiven Maßnahmen gegen Sekundärkaries antibakterielle Effekte der Adhäsive eine immer größere Bedeutung für die restaurative Zahnmedizin [Kurarey Symposium 2004].

Unermüdlich wird weiterhin nach neuen Monomeren geforscht mit dem Ziel zahnärztlichen Restaurationsmaterialien möglichst auch antibakterielle Bestandteile hinzuzufügen.

Erste Dentinadhäsive, die gleichzeitig antibakterielle Breitbandwirkung und hohe Haftung verzeichnen konnten, waren glutaraldehydhaltige Produkte. Glutaraldehyd ist als starkes Desinfektionsmittel bekannt, dennoch wurde es den Adhäsivsystemen zugeführt um deren Haftkraft zu steigern. Glutaraldehyd haftet an Kollagenfasern und führt zur erfolgreichen Verklebung zwischen Dentin und Restaurationsmaterial (Imazato 2003). Als Nebeneffekt zeigten Dentinadhäsive, welche Glutaraldehyd enthielten, Inhibitionszonen gegen Laktobazillen, Streptokokken und Aktinomyzeten (Imazato 2003; Meiers & Miller 1996).

Jedoch sind die positiven Eigenschaften von Glutaraldehyd mit Nachteilen verbunden: Glutaraldehyd zeigt kontinuierliche Aktivität und inhibiert nicht nur

unerwünschte Bakterien, sondern wirkt auch zelltoxisch. Daraus resultierend stellt sich laut Prof. Schmalz (Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie Universität Regensburg): die Frage, wie viel vom toxischen Glutaraldehyd bei Bondingverfahren appliziert wird und wie viel davon möglicherweise die Pulpa beeinflusst (Schmalz [ConsEuro Munich] 2003).

Imazato et al. präsentierten 1994 das neue antibakterielle Monomer Methacryloyloxydodecylpyridiniumbromid (MDPB), das von einem antibakteriellen Mittel des quaternären Ammoniums und einer Methacryloyl Gruppe synthetisiert wurde. Die Kompositen, welchen MDPB beigefügt wurde, zeigten lang anhaltende und antibakterielle Breitbandwirkung gegen orale Bakterien. Gleichzeitig konnte nachgewiesen werden, dass MDPB keinen negativen Einfluss auf die Polymerisation oder mechanischen Eigenschaften der Materialien hatte (Imazato et al. 1994; Imazato & McCabe 1994). Getestet wurde auch die Wasseraufnahme von Kompositen auf Bis-GMA-Basis und es wurde festgestellt, dass durch eine Zugabe von 0,4 - 0,5 % MDPB dieser Prozess nicht beeinflusst wird, jedoch konnte diese Zugabe schnellere Verfärbung des Materials bei einer Temperatur von 37 °C hervorrufen (Imazato et al. 1999).

Im Jahr 1997 wurden erste Versuche unternommen, MDPB dem Primer hinzuzufügen. Die Ergebnisse waren eine wünschenswerte stark antibakterielle Wirkung gegen Karieserreger wie Streptokokkus mutans, Actinomyces viscosus und Lactobacillus casei. Dabei zeigten Primer mit bis zu 5 % MDPB Gehalt keine negative Wirkung bezüglich Haftkraft der Dentinadhäsive, Produkte mit 1 und 2 % MDPB Gehalt zeigten eine höhere Haftung als die Kontrollen (Imazato et al. 1997).

In einer weiteren Studie berichteten Imazato et al. (2002), dass die Applikation von Primern mit 4 % MDPB die komplette Abtötung der Bakterien in demineralisiertem Dentin verursachte und dabei das Penetrieren des Bondingsystems in demineralisiertem Dentin nicht beeinträchtigte.

Das erste kommerziell erhältliche antibakterielle Adhäsiv, das Schlagzeilen machte, war Clearfil Protect Bond (Kurarey Medical Inc., Okayama, Japan) mit MDPB Zusatz. Clearfil Protect Bond (Kurarey Medical Inc., Okayama, Japan) ist eine Weiterentwicklung von Clearfil SE Bond (Kurarey Medical Inc.) und besteht aus einem antibakteriellen selbstätzenden Primer und einem Fluorid freisetzenden Bonding.

Neben MDPB, HEMA (2-Hydroxyäthyl Methacrylat), Hydrophiles Dimethacrylat und Wasser enthält der selbstätzende Primer auch das Molekül MDP (10-Methacryloyloxydecyldihydrogenphosphat), das in mehreren Studien als Bestandteil von Clearfil SE Bond durch große Haftfähigkeit an der Zahnschmelze überzeugte (Fritz et al. 2001; Ibarra et al. 2007; Jaber Anasari et al. 2008). Der Bond besteht aus MDP, Bis-GMA (Bis-Phenol A Diglycidylmethacrylat), HEMA, Hydrophiles Dimethacrylat, dl-Camphorachinon, N, N-Diethanol-p-Toluidin, Kolloides Siliziumoxyd und Natriumfluorid.

Es folgten zahlreiche Studien, die über erfolgreiche Ergebnisse berichteten: Die antibakterielle Breitbandwirkung des MDPB Monomers als Bestandteil von Adhäsivsystemen wurde mehrfach und überzeugend dargestellt (Imazato et al. 1998; Imazato et al. 1997; Imazato et al. 2001; Schmalz et al. 2004). Trotzdem haben die Ergebnisse, die Türkün et al. (2006) präsentierten, alle Erwartungen

übertroffen: Das antibakterielle Clearfil Protect Bond zeigte größere Inhibitionszonen gegen *Streptokokkus mutans* und beseitigte im Kavitätentest Bakterien effektiver als in der Praxis verwendbare übrige Kavitäten-Desinfektions-Mittel.

Die Haftfestigkeit von Clearfil Protect Bond an Schmelz und Dentin wurde weitgehend positiv beurteilt (Celik et al. 2006; Korbmacher et al. 2006; Chieffi et al. 2009; Chieffi et al. 2005; Holzmeier et al. 2008; Imazato et al. 2003).

Prüfungen der wasserinduzierten Nanoleakage in Dentinadhäsiven haben ergeben, dass bei Clearfil Protect Bond gegenüber den getesteten 5 weiteren kommerziellen Bondingsystemen der Effekt der Nanoleakage am wenigsten ausgeprägt war (Reis et al. 2009).

Imzato et al. berichteten, dass MDPB beigesetzte Adhäsive fähig waren in demineralisiertes Dentin (bis 140 µm tief) zu penetrieren und dort Bakterien zu bekämpfen (Imazato et al. 2002; Kuramoto et al. 2005). Im Jahr 2005 berichtete Türkün über die Ergebnisse klinischer Studien, wonach Clearfil Protect Bond postoperative Sensitivität in „noncarious“ Defekte bis zu 100 % inhibieren konnte, was sich auf den Verschluss der Dentintubuli durch das Bondingsystem und die damit einhergehende Reduktion der Microleakage zurückführen lässt (Türkün 2005).

Die Farbstabilität von Clearfil Protect Bond wird als exzellent beurteilt (Türkün 2004; Türkün 2005).

Nach all den durch positive Ergebnisse gekennzeichneten Studien sind das MDPB Monomer und Clearfil Protect Bond neue Hoffnungsträger für die konservative Zahnmedizin geworden, die die Vision von Dentinadhäsiven der Zukunft verwirklichen sollen.

## **2.5 Das MDPB Monomer als Gegenstand der aktuellen Forschung**

Die überwiegende Zahl von Forschern ist sich heute darüber einig, dass MDPB als Bestandteil von zahnmedizinischen Produkten stark desinfizierende Wirkung aufweist, ohne die Materialeigenschaften von Adhäsiven oder Kompositen negativ zu beeinträchtigen.

Die Wirkungsweise des MDPB Monomers auf die Bakterien ist weitgehend geklärt, negativ geladene Bakterienzellstrukturen werden von der positiv geladenen Pyridiniumgruppe des MDPB Monomers angezogen. Dadurch wird elektrische Ladung neutralisiert und die Bakterienzelle gerät aus dem Gleichgewicht, was zur Bakteriolyse führt (Imazato et al. 1998).

Dennoch wird die Verhaltensweise von MDPB nach der Polymerisation und die zell- bzw. pulpatoxischen Aspekte widersprüchlich diskutiert. Auch die Fähigkeit des MDPB Monomers als Präventiv gegen Sekundärkaries wird in Frage gestellt.

Im Jahr 1999(a) prüften Imazato et al. die Toxizität von MDPB auf den Pulpa-Zellen ([<sup>3</sup>H]-thymidine) nach dem Kontakt mit den MDPB-Lösungen unterschiedlicher Konzentration. Kein zytotoxischer Effekt wurde beobachtet nach dem Kontakt mit Lösungen mit einer Konzentration von 10 µg ml<sup>-1</sup> oder weniger. Die Zytotoxizität von MDPB wurde mit der Zytotoxizität von anderen Monomeren,

die für zahnmedizinische Produkte eingesetzt werden, gleichgestellt und als unbedenklich eingeschätzt.

Im Jahr 2000 führten Imazato et al. eine vergleichbare Studie mittels des Dentin-Barriertests durch, wobei sie neben Adhäsivsystemen auch Komposite ins Visier genommen haben, und berichteten erneut, dass die Toxizität vom MDPB Monomer niedrig war und dass bis zu 5 % MDPB in Testmaterialien im Vergleich zu Kontrollen keine signifikante Toxizität gegenüber Pulpazellen ([<sup>3</sup>H]-thymidine) aufwiesen. Diese Ergebnisse wurden von weiteren Forschungsgruppen unterstützt: Koulaouzidou et al. (2008) untersuchten die Toxizität von Clearfil Protect Bond, im Vergleich zur anderen kommerziellen Adhäsiven (Adper Scotchbond 1, Excite, Tyrian SPE und One Step plus) an Fibroblasten (RPC-C2A, BHK21/C13 und MRC5) vor und nach der Polymerisation. Zwar erzeugten alle Testmaterialien antiproliferative Effekte an Testzellen, dennoch hat sich Clearfil Protect Bond mit einer Zellüberlebensrate von 66 – 97 % als am wenigstens toxisch erwiesen.

Gurpinar et al. (2006) haben in ihren Untersuchungen gezeigt, dass alle von den 4 (Mac Bond II (Tokuyama, Japan); FL Bond (Shofu, Japan); ClearfilSE Bond (Kuraray, Japan); Clearfil Protect Bond (Kuraray, Japan) geprüften kommerziellen Adhäsiven toxisch gegenüber Zellkulturen von Fibroblasten (L929) waren. Doch bei niedrigen Konzentrationen 1:4000 (v/v) zeigte Clearfil Protect Bond ebenso wie ClearfilSE Bond und Mac Bond II weniger Toxizität als FL Bond. Die Toxizität von ClearfilSE Bond und Clearfil Protect Bond wurde als vergleichbar bewertet, dabei wurde kein Unterschied zwischen dem Primer und dem Bond von Clearfil Protect Bond bezüglich Toxizität festgestellt. Daraus resultierend lässt sich der

toxische Effekt von Clearfil Protect Bond nicht auf die MDPB Monomere zurückführen.

Der Meinung, dass das MDPB Monomer als Bestandteil von zahnmedizinischen Füllungsmaterialien hinsichtlich der Toxizität unbedenklich sei, stehen viele Forscher kritisch gegenüber:

Moodley et al. 2005 untersuchten die Zytotoxizität von Clearfil Protect Bond an Mäusen-(3T3)-Zellkultur, indem sie in durchlässigen Membranen platzierte Testmaterialien mit einem Zellkulturmedium in Kontakt brachten und polymerisierten. Nach 24 Stunden wurden folgende Ergebnisse ermittelt: Der Primer von Clearfil Protect Bond zeigte (Zellüberlebensrate 30 %) mehr Toxizität als das Bond von Clearfil Protect Bond (Zellüberlebensrate 91 %). Dabei wies die Kombination von MDPB und HEMA mehr Toxizität auf als die Kombination HEMA und GMA. Die Forscher kamen zu der Schlussfolgerung, dass in Clearfil Protect Bond enthaltene suffiziente Komponenten das Überleben von Zellkulturen beeinträchtigen und wiesen darauf hin, dass Komponenten wie MDPB und/oder HEMA die primäre Ursache dafür repräsentierten.

Demirci et al. (2008) haben sich mit Zito- und Geno-Toxizität von Adhäsivsystemen befasst und untersuchten unter anderem Clearfil SE Bond (Kuraray Medical, Okayama); AdheSE (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein); Prompt L-Pop (3M ESPE Seefeld, Germany); Excite; (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) und auch Clearfil Protect Bond. Die Ergebnisse zeigten, dass alle geprüften Adhäsivsysteme zelltoxische Effekte erzeugten. Dabei waren die Bonder von Adhäsivsystemen allgemein mehr toxisch als die Primer, mit Aus-

schluss des Primers von Clearfil Protect Bond, das mehr Toxizität gegenüber menschlichen Pulpazellen (transformierte tHPC Zellen) zeigte als das Bond von Clearfil Protect Bond und unter den getesteten Materialien am höchsten toxisch war. Schon ab einer Konzentration von 0,45 mg/ml zeigte der Primer von Clearfil Protect Bond die Reduktion (bzw. Abtötung) der Zellen um 50 %, gefolgt vom Primer von Clearfil SE Bond (3.0 mg/ml), Primer von Prompt L-Pop (4.85 mg/ml) und Primer von AdheSE (> 10 mg/ml). Im Dentin-Barriertest wurde bei keinem von den getesteten Adhäsivsystemen ein zytotoxischer Effekt festgestellt. Allgemein beurteilten die Forscher die Toxizität von Adhäsiven als vergleichbar, dennoch verwiesen sie darauf, dass die erhöhte Toxizität des Primers von Clearfil Protect Bond auf MDPB zurückzuführen sei. Als Schlussfolgerung kamen die Forscher zu dem Ergebnis, dass biologisch aktive Bestandteile in diesen Materialien stark genug sind Pulpazellen zu gefährden, wenn diese ohne Dentenschutz (z.B. Caries Profunda, direkte Überkappung der Pulpa) den Substanzen ausgesetzt sein sollten.

Umso mehr überraschen die Ergebnisse, die Ozer et al. (2008) nach der Direktüberkappung der Pulpa beobachteten. Für die Untersuchung wurden 8 Zähne, die Caries Profunda aufwiesen und für eine Extraktion vorgesehen waren, ausgewählt. Pulpen wurden im Approximalbereich mit 1mm/Diameter freigelegt. 4 Zähne wurden mit Clearfil Protect Bond in Verbindung mit Clearfil APX (kurarey japan) und 4 als Kontrollen mit Dycal (Dentsply/Caulk, USA) in Verbindung mit Komposit behandelt bzw. direkt überkappt. Nach 90 Tagen waren alle Zähne beschwerdefrei (asymptomatisch) und vital. 2 Zähne, die mit Clearfil Protect Bond behandelt wurden, mussten nicht extrahiert werden. Laut histologischem Befund konnten in Zähnen, die mit Clearfil Protect Bond behandelt wurden, regenerative

Prozesse im Sinne der Formation von Dentinbrücken („dentin bridging“) um den freigelegten Bereich beobachtet werden. Mit Dycal gefüllte Zähne hingegen wiesen die Dichtigkeitsabnahme von Odontoblasten auf und keine Bildung von Dentinbrücken. Ozer et al. (2008) kamen zum Schluss, dass die biologische Kompatibilität von Clearfil Protect Bond akzeptabel ist und dass dieses Produkt sich für direkte Überkappung der Pulpa eignet, nichtsdestotrotz forderten die Wissenschaftler, dass diese Ergebnisse durch weitere Studien noch überprüft und belegt werden sollten.

Die beschriebenen regenerativen Effekte werden durch folgende Hypothese belegt: Durch Reduktion der Bakterien in der Kavität wird die Entzündungsreaktion gehemmt, daraus resultierend werden die natürlichen Prozesse der Geweberegeneration der Pulpa stimuliert, was zur Bildung von sog. "Dentinbrücken" ("Bridging") führt.

Langfristig gesehen hängt die Frage, ob es durch Zufuhr des MDPB Monomers in den Restaurationsmaterialien zell-/pulpatoxische, allergische Reaktionen gibt, oder gar regenerative Effekte zu erwarten sind, maßgeblich davon ab, ob MDPB nach der Polymerisation weiterhin aktiv bleibt oder nicht und ob antibakterielle Bestandteile freigesetzt werden können.

Es wurde gezeigt, dass polymerisierte Kompositen bereits in Verbindung mit nur 0,2 % MDPB eine Akkumulation einer streptokokalen Plaque bis zu 1/2 (+) im Gegensatz zu Kontrollen, die ein komplettes Plaquewachstum auf dem ganzen Probekörper zeigten (+++), verhinderten, wenn die Proben für 48 St. auf den BHI (Brein Harth Infusion) Agar-Platten gezüchtet wurden. Die antibakterielle Wirkung

blieb sogar nach 3-monatiger Lagerung der polymerisierten Proben in Wasser vorhanden: auf den Proben mit MDPB Zusatz war die Plaqueakkumulation mit  $> 0,2 \text{ OD}_{550}$  (optische Dichte der Vorkultur) signifikant weniger als auf den Kontrollen ( $> 0,4 \text{ OD}_{550}$ ).

Imazato et al. (1994) erklärten, dass das "MDPB Molekül" während der Polymerisation durch die Methacryloyl-Struktur in die Polymermatrix fest eingebaut und nicht mehr freigesetzt wird. Trotzdem kann es seine antibakteriellen Fähigkeiten durch Direktkontakt mit Bakterien dauerhaft durchsetzen.

Es folgten weitere Studien die zeigten, dass das MDPB Monomer als Bestandteil von Kompositen (Imazato et al. 1998(a); Imazato & McCabe 1994) oder Adhäsivsystemen (Imazato et al. 1998; 2003) fähig ist, eine antibakterielle Wirkung auch nach der Polymerisation zu entfalten.

Dass das MDPB Monomer auf der chemischen Ebene in die Polymermatrix covalent eingebaut wird, scheint allgemein keine Zweifel zu erregen, doch von der Hypothese, dass damit eine permanente Karies hemmende Wirkung hervorgeht, sind nicht alle Forscher überzeugt.

Schmalz et al. (2004(a)) prüften die antibakterielle Wirkung von Adhäsiven mit MDPB-Zusatz mittels des Agar-Diffusion- und Dentin-Bariertests vor und nach der Polymerisation. Im Agar-Diffusion-Test konnte der mit MDPB beigesetzte Primer starke antibakterielle Breitbandwirkung zeigen. Diese war mit der Wirkung von Chlorhexidine vergleichbar. Im Dentin-Bariertest inhibierte unpolymersiertes MDPB das Wachstum von *S. mutans*, *S. Sobrinus* und *L. Acidophilus* bis zu 80 %

und schnitt damit besser ab als die mit Chlorhexidine behandelten Kontrollen. Dieser Effekt wurde aber durch die Polymerisation der Testsubstanz unterbunden; es konnten sogar durch nur 200 µm starke Dentinscheiben keine Inhibitionszonen beobachtet werden.

Prof. Schmalz (2003) interpretiert diese Ergebnisse anders als Imazato et al. (1994) und meint, dass MDPB seine desinfizierende Wirkung nur während der Einwirkzeit des Adhäsivs entfaltet und durch die Vernetzung bei der Polymerisation wieder gestoppt wird. Gleichzeitig wird diese Eigenschaft durchaus positiv bewertet, denn auf diese Weise sollen, im Gegensatz zum ständig aktiven Glutaraldehyd, Nebenwirkungen auf der Pulpa oder allergische Sensibilisierungen vermieden werden. MDPB wird als potenzielle Alternative zu Glutaraldehyd betrachtet.

Auch weitere Forschungsgruppen konnten nach der Polymerisation keine bzw. keine lang anhaltende bakterizide Wirkung des MDPB Monomers feststellen:

Feuerstein et al. (2007) prüften unterschiedliche Dentinadhäsive, darunter Clearfil Protect Bond mittels des Agar-Diffusion-Tests und Direkt-Kontakt-Tests nach (ein, zwei, sieben und 14 Tagen) Alterung in Phosphat-gepufferter Salzlösung auf ihre Wirkung auf *S.mutans*. Die Forscher konnten bei Clearfil Protect Bond nach sieben Tagen nach der Polymerisation immer noch eine Bakterien inhibierende Wirkung verzeichnen. Dennoch verschwand diese nach 14-tägiger Beobachtungszeit. Forscher diskutierten, dass MDPB während der Polymerisation nicht vollständig in die Polymermatrix eingebaut wird und dass die nichteingebundenen Bestandteile freigesetzt werden, was nach der Polymerisation zur kurzfristigen antibakteriellen Wirkung führt.

Auf die Freisetzung eines MDPB–Wirkstoffs weist auch Waschinski (2007) in seiner Dissertationsschrift hin, wobei er meint, dass die Komponente zwar vollständig sei, aber verglichen mit den übrigen Bestandteilen des Materials weniger gut in das Netzwerk eingebaut und daher verstärkt herausgewaschen werden müsste. Dabei verschwindet die bakterizide Aktivität gegen *S.aureus* nach 19 und *S. mutans* schon nach 4 Tagen vollständig.

Dies bedeutet, dass zwar die Kavität von zurückgebliebenen Bakterien gereinigt wird, was gegen Kariesrezidive nützlich sein kann. Werden aber Eindringlinge von außen nicht bekämpft, ist der Langzeitschutz gegen Sekundärkaries nicht zu erwarten (Feuerstein et al. 2007).

De Carvalho et al. (2009) berichteten, dass Clearfil Protect Bond nicht in der Lage war in einer 5 Tage langen In-vitro-Studie Sekundärkaries zu inhibieren. Die mit Clearfil Protect Bond behandelten Zähne zeigten zwar niedrigsten Mineralverlust an der Restaurationsgrenze bei chemischer Karieserzeugung, wiesen aber den höchsten Mineralverlust auf, wenn Karies durch Einsatz von *S. mutans* erzeugt wurde.

Diese Ergebnisse stimmen wiederum mit den Ergebnissen von Kaneko et al. (2001) und Imazato et al. (2004) nicht überein: Sie demonstrierten in Tierversuchen, dass der MDPB-beigesetzte Primer antibakterielle Effekt auch in vivo zeigen konnte und belegten damit die Nützlichkeit von antibakteriellen Adhäsiven.

Nach all den widersprüchlichen Angaben bleibt die Wirkung des MDPB Monomers nach der Polymerisation ungeklärt und die Frage, ob MDPB als Bestandteil von Bondingsystemen zum Schutz gegen sekundäre Randspaltkaries tatsächlich beitragen kann, immer noch unbeantwortet.

### 3. Ziele und Fragestellung

Moderne Dentinadhäsive können Haftwerte von über 20 MPa erzeugen (Swift et al. 1995; Fritz et al. 2001), trotzdem sind sie nicht in der Lage der Polymerisationsschrumpfung von Kompositen entgegen zu wirken und im Dentinbereich einen komplett randspaltfreien Verbund herzustellen (Swift et al. 1995; Haller & Trojanski 1998; Frankenberger 2001). Spalten zwischen Kavitätenwand und Restauration können durch Mikroorganismen aus Speichel kolonisiert werden und Sekundärkaries und Pulpaschädigungen hervorrufen (Flessa et al. 1994; Frankenberger et al. 2001; Nover 2000). Es wurde gezeigt, dass die Erkrankungsrate an Sekundärkaries hoch ist (Kidd et al. 1992; Mjör et al. 1992; 2002; Friedl et al. 1995; Wilson et al. 1997; Manhart 2003). Einen weiteren Grund für den erneuten Kariesbefall können während der Erstbehandlung versehentlich in der Kavität verbliebene Bakterien darstellen (Fusayama & Terashima 1972; Terashima et al. 1969; Zavareh & Yazdizadeh 2008). Antibakterielle Adhäsive könnten für die Inhibition von Residual- und Sekundärkaries nützlich sein. Es wurde mehrfach gezeigt dass Clearfil Protect Bond, das das antibakterielle Monomer 12-Methacryloyloxy-dodecylpyridiniumbromid (MDPB) enthält, starke desinfizierende Breitband-Eigenschaften aufweist (Imazato et al. 1997; 1998; 2001; 2002; Schmalz et al. 2004; Türkün et al. 2006). Aber die Frage, ob das MDPB Monomer auch nach der Polymerisation bakterizid wirkt und damit gegen Sekundärkaries schützt, ist bis heute nicht eindeutig geklärt, da unterschiedliche Berichte vorliegen (Imazato et al. 1994; 1997; 1998; 2003; Kaneko et al. 2001; Schmalz et al. 2004(a); Feuerstein et al. 2007; Waschinski 2007; De Carvalho et al. 2009).

Das Ziel dieser Studie war, die Wirkung des MDPB Monomers als Bestandteil eines selbstätzenden Adhäsivsystems, Clearfil™ Protect™ Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan), nach der Polymerisation zu ermitteln.

Durch mehrere Studien wurde die Sekundärkaries inhibierende Wirkung von Glasionomerkementen (GIZ), die Fluorid freisetzen belegt, daher sollte die Effektivität von Clearfil Protect Bond im Vergleich zu einem GIZ, wie z.B. Fuji IX (“GC” Europe, Leuven, Belgien), getestet werden.

Für diese Untersuchung haben sich folgende konkrete Fragen ergeben:

1. Wird durch die Anwendung von Clearfil Protect Bond die Sekundärkariesentstehung an dentinbegrenzten Kompositfüllungen gehemmt?

a) Kann MDPB seine bakteriziden Eigenschaften nach der Polymerisation beibehalten?

b) Ist mittels MDPB ein kariesinhibierender Effekt nach intraoraler Verweildauer zu erwarten, oder wird diese in einem feuchten Milieu aus dem Restaurationmaterial ausgewaschen?

2. Falls von MDPB eine permanente bakterizide Wirkung hervorgeht, könnte man diese Eigenschaft hinsichtlich der Kariesinhibition mit Wirkung von GIZ, die durch einen wiederauflade Effekt langfristigen Demineralisationsschutz anbieten, als gleichgestellt betrachten?

Die geplanten Untersuchungen sollen *in vitro* unter Berücksichtigung diverser *In-vivo*-Faktoren, wie z. B. Bakterienflora, Plaquevorkommen und Deremineralisationskurven erfolgen. Die Verwendung einer künstlichen Mundhöhle ist die geeignete Methode.

## **4. Material und Methode**

### **4.1 Methodik**

#### 4.1.1 Zahnproben

Für die Studie wurden extrahierte, intakte, kariesfreie menschliche Molaren der zweiten Dentition mit abgeschlossenem Wurzelwachstum verwendet.

Das Probenmaterial wurde nicht länger als 6 Monate in Natriumazid versetzter Ringerlösung (0,8 %ig) aufbewahrt.

Zu Versuchsbeginn wurden die Zähne von anhaftenden Geweberesten mit Hilfe von Scalern und Gracey-Küretten (KAVO Dental GmbH, Biberach) gesäubert. Daraufhin wurden die Wurzeln der Zähne 3 bis 5 mm unterhalb der Schmelz-Zement-Grenze (SZG) mit einer diamantierten Trennscheibe (R 918 PB 023 Komet, Lemgo, Deutschland) abgeschnitten, Wurzelkanäle wurden von Pulpage-webe befreit und die Zähne in 70 % Ethanol zwei Stunden desinfiziert. Darauf folgend wurden die Höcker von der Kaufläche soweit abgetragen (R 918 PB 023 Komet, Lemgo, Deutschland), bis das Dentin von Schmelz befreit war.

Anschließend wurden etwa Ø 4 - 5 mm x T 1,8 - 2 mm große, allseitig vom Dentin begrenzte Kavitäten Klasse I mit einem zylindrischen Präparierdiamanten (S 6835 KR; Komet, Lemgo, Deutschland) unter ständiger Wasserkühlung präpariert. Es wurde darauf geachtet, dass überall um die Kavität eine Mindestschichtstärke des Dentins von 1 - 2 mm vorhanden war. Mit einem wasserfesten Stift wurde der

Präparierdiamant markiert, so wurde die Tiefe der Kavität (1,8 – 2 mm) kontrolliert.

Die Proben wurden während der gesamten Verarbeitung nach Möglichkeit befeuchtet oder in sterilem künstlichem Speichel gelagert, um das Austrocknen von Zahnhartsubstanz zu vermeiden. Alle Arbeitsschritte erfolgten unter sterilen Bedingungen, wenn möglich im Laminar-Flow, wo sterile Auflagen und nur sterile Instrumenten verwendet wurden.

#### 4.1.2 Gruppenverteilung

Die Zähne wurden zufällig in 4 Gruppen zu je 2 Zähnen geteilt und die Kavitäten unterschiedlich gefüllt (Tab.: 4.1.2).

Die Kavitäten der Gruppe F wurden mit dem Fluorid freisetzenden Glasionomerzement (HGIZ) Fuji IX (“GC” Europe, Leuven, Belgien) gefüllt. Unmittelbar danach wurden die Zähne in sterilem künstlichem Speichel (siehe Abschnitt 4.3.1) eingebracht und 24 Stunden in den Brutschrank gelegt. Danach erfolgte die Politur der Füllungen nach der unten beschriebenen Methode.

Tabelle: 4.1.2 / Gruppenverteilung

<b>Gruppe F</b>	<b>Gruppe OB</b>	<b>Gruppe SB</b>	<b>Gruppe PB</b>
<b>Glasionomerzement</b>	<b>ohne Bond</b>	<b>Clearfil™ SE Bond</b>	<b>Clearfil™ Protect™ Bond</b>
		<i>(Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan)</i>	<i>(Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan),</i>
<b>Fuji IX GP</b>	<b>Tetric Ceram HB</b>	<b>Tetric Ceram HB</b>	<b>Tetric Ceram HB</b>
<i>(„GC“ Europe, Leuven, Belgien)</i>	<i>(„Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein)</i>	<i>(„Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein)</i>	<i>(„Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein)</i>

Die Kavitäten der Gruppe OB wurden ausschließlich mit dem Hybridkomposit Komposit Tetric Ceram HB („Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein) ohne Haftvermittler gefüllt. Durch das Ausbleiben von Haftvermittlern sollte ein unzureichender Verbund zwischen Komposit und Dentin und damit einhergehende verstärkte Randspaltbildung simuliert werden.

Die Kavitäten der Gruppe PB und Gruppe SB wurden ebenfalls mit Komposit Tetric Ceram HB („Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein) gefüllt. Dabei wurde bei Gruppe PB das antibakterielle MDPB und das Fluorid enthaltende Adhäsivsystem Clearfil™ Protect™ Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan) als Haftvermittler verwendet.

Bei der Gruppe SB wurde Clearfil™ SE Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan) mit MDP Zusatz eingesetzt, dadurch sollte ein suffizienter Komposit-Dentin-Verbund ohne die antibakteriellen Eigenschaften des Bonding-Systems simuliert werden. So konnte die Wirksamkeit von Clearfil™ Protect™ Bond im Vergleich zu einer unter optimalen Bedingungen hergestellten Restauration, die keine antibakterielle Eigenschaften aufweist, getestet werden.

Das Vorbereiten der Kavitäten erfolgte nach Herstellerangaben: Zuerst wurde der selbststättende Primer appliziert und nach 20 Sek. Einwirkzeit mit sanftem Luftstrom verblasen. Darauf folgend wurde das Bond appliziert und ebenfalls mit sanftem Luftstrom gleichmäßig verteilt und 10 Sek. lichtgehärtet (Lampe Elipar Highlight, ESPE, Deutschland).

Die Kavitäten wurden jeweils in zwei horizontalen Schichten mit dem Hybridkomposit Tetric Ceram HB (Heidemann & Kugelstopfer, KAVO Dental GmbH, Biberach) gefüllt, dabei wurde auf die zweite Schicht ein transparentes Matrizenband (Frasaco GmbH, Tettang, Deutschland) aufgedrückt, die Zahnprobe mit dem Füllungswerkstoff wurde dann auf eine Glasplatte (Objektträger / Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) gedrückt und Füllung dadurch geglättet. Jede Kompositschicht wurde separat 40 Sek. lang lichtgehärtet (Lampe Elipar Highlight, ESPE, Deutschland). Unmittelbar danach erfolgte die Politur der Füllungen.



Abbildung 4.1.1 / Gefüllte Zahnproben

Zur Entfernung der Füllungsüberschüsse und Politur wurde eine Schleifmaschine (Leco VP 100 GmbH, Neuss, Germany) eingesetzt. Die Politur erfolgte unter ständiger Wasserkühlung - zuerst mittels Silicon-Carbid-Schleifpapier mit einer Körnung von P600, darauf folgend mit der Körnung P1200 und anschließend mit der Körnung P2400. Es wurde besonders darauf geachtet, keine Füllungs- oder Bond- Überschüsse zu belassen.

Nach erfolgter Politur wurden die Zähne der Gruppen OB, SB und PB ebenfalls für 24 Stunden in sterilem künstlichem Speichel bei 37 °C gelagert, um die hygroskopische Expansion der Füllungsmaterialien zu berücksichtigen.

#### 4.1.3 Künstliche Alterung der Zähne

Vorbereitete Proben wurden mittels Thermocycling-Gerät und Kausimulator künstlicher Alterung unterzogen, um die Entstehung von Randspalten voranzutreiben.

##### *4.1.3.1 Thermocycling*

Zur Simulation der Temperaturbeanspruchung *in vivo* wurden die Proben einer thermischen Wechselbelastung mittels automatisierten Thermocyclinggerätes (Thermocycler V 2.8, Willytec GmbH, München, Deutschland) ausgesetzt.

Der mit Probezähnen gefüllte Behälter dieses Gerätes tauchte abwechselnd in ein mit 55 °C destilliertem Wasser gefülltes Becken und darauf folgend in ein gleich konstruiertes Becken mit einer Wassertemperatur von 5 °C. Die Verweildauer in jeweiligem Becken betrug jeweils 30 Sek., die Abtropfzeit 15 Sek.

Es wurden 2000 Zyklen durchgeführt.

#### *4.1.3.2 Kausimulation*

Unmittelbar nach dem Termocycling wurden die Proben zur Simulation der mechanischen Belastung der Restaurationen in vivo einer Belastung im Kausimulator MUC-II (Willytec GmbH, München, Deutschland) unterzogen.

Vor dem Einbringen der Proben in den Kausimulator wurden an das Wurzelteil der Zähne sterile, im Rocatecverfahren zuerst mit dem Strahlpulver Rocatec pre mechanisch aufgeraute (ESPE, Seefeld) und dann mit Rocatec plus silikatisierte Aluminiumkausimulatorplatten angebracht und mit lichthärtendem Komposit befestigt. Als Antagonisten wurden 5 mm Durchmesser Degussitkugeln ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Keramik, Durchmesser 5 mm, Härte 1750, FRIATEC, Mannheim) verwendet. Diese wurden in den ebenfalls im Rocatecverfahren vorbereiteten runden Kausimulatorplatten genauso mit Komposit befestigt.

So vorbereitete Zahnproben wurden in acht Probenkammern, die sich auf dem schienengeführten Tisch des Kausimulators MUC-II befinden, befestigt und aufsetzbare Zylinder aus Plexiglas aufgebracht. Anschließend wurden die Probenkammern mit künstlichem Speichel befüllt. Die Antagonisten wurden ebenfalls im Antagonistenhalter des Kausimulators befestigt. Dann wurde das Aufsetzen des Antagonisten auf die Proben mechanisch justiert und für jede Probe individuell eingestellt. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Antagonisten in der Mitte der Füllung auftraten. Der weitere Ablauf der Zyklen wurde elektronisch gesteuert.

Ein Kausimulatorzyklus startet mit dem Aufsetzen der Antagonisten auf die Proben. Dabei werden die Proben mit auf den Laststangen aufgebrachtem Gewicht (In diesem Fall 5 Kg = ca. 50 N) belastet. Anschließend findet eine Vorschubbewegung unter Last statt, indem sich der Tisch mit den Proben dem Antagonisten entgegen bewegt. In der Endphase eines Zyklus werden die Proben und Antagonisten außer Kontakt gebracht unmittelbar danach startet ein weiterer Zyklus.

In dieser Untersuchung durchliefen die Zahnproben 50.000 Zyklen.

#### 4.1.4 Lagerung von gefüllten Zahnproben

So vorbereitete Proben wurden, bevor sie den Karies fördernden Bedingungen ausgesetzt wurden, 4 Wochen lang in künstlichem Speichel bei 37 °C gelagert. Jede Gruppe wurde in separaten Behältern aufbewahrt und das Lagerungsmedium alle 24 Stunden gewechselt. Durch solch ein Vorgehen sollte die regelmäßige Entfernung freigesetzter Fluoridmengen (möglicherweise auch von MDPB) aus der Mundhöhle durch das Verschlucken des Speichels nachgeahmt werden, um im Rahmen der In-vitro-Studie eine Aussage über die Wirkung von Materialien nach intraoraler Verweildauer machen zu können.

#### 4.1.5 Simulation von Black-Klasse II Restaurationen

Anschließend wurden die Zähne mit einer diamantierten Trennscheibe (Low speed saw, Isomet Buehler) unter ständiger Wasserkühlung senkrecht bis zur Schmelz-Zement-Grenze halbiert, so dass die Zähne im restlichen Wurzelbereich verbunden

blieben. Dadurch wurden die Zähne in mesiale und distale Teile geteilt Abb.: 4.1.5. Durch dieses Vorgehen konnten proximale Zahnoberflächen simuliert werden.

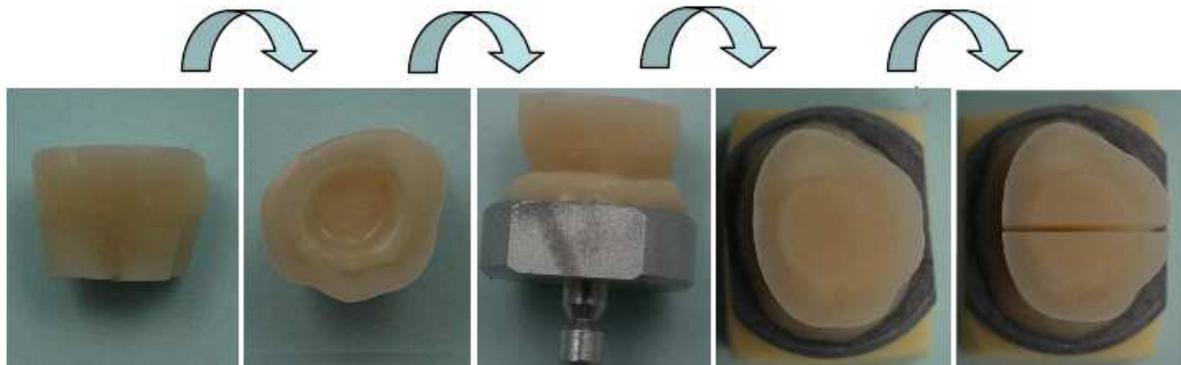


Abbildung 4.1.5 / Herstellung der Zahnproben

## 4.2 Künstliche Mundhöhle

Für die Durchführung der Untersuchungen wurde eine im Wesentlichen aus einem Exsikkatorgefäß, einem Brutschrank und 2 Schlauchpumpen bestehende, künstliche Mundhöhle angefertigt.

### 4.2.1 Reaktionsgefäß

Das Exsikkatorgefäß (Rotilabo-Exsikkator Nr.1008.1, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) wurde für die Versuchsanordnung, wie unten beschrieben, modifiziert:

Im unteren Gefäßdrittel, seitlich an der Wand des Exsikkators, wurde eine Bohrung mit 1cm Diameter als Abflussöffnung gelegt (Abb. 4.2.1a). In diese Öffnung wurde ein harter, 20 cm langer Kunststoffschlauch mit 1 cm Durchmesser (Rotilabo-Vakuum-Silikonschlauch Nr. 9747.1, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland)

eingbracht und für die Dichtigkeit mit knetbarem Silikon („Optosil Comfort“ (putty); Heraeus Kulzer; Deutschland) versiegelt.



Abbildung 4.2.1a / Abflussöffnung

In die Exikkatorplatte, die zur Aufnahme der Zahnproben diente, wurde zentral eine Öffnung (1 cm x 10 cm) gelegt. Rechts und links dieser Zentralöffnung wurden noch mal (3 cm x 6 cm) Öffnungen ausgeschnitten. In die zentrale Öffnung wurde später der Kohlendioxidentwickler (BD GasPak 100-System; BD Diagnostic Systems; Heidelberg, Deutschland) eingebracht. Dies war notwendig, um ein anaerobes Milieu zu simulieren. Seitliche Öffnungen ermöglichten das Abfließen der Spüllösungen in den unteren Gefäßteil. Dieser wurde 2-mal am Tag durch Abflussöffnung geleert (die Abfallflüssigkeit wurde in einer 10 Liter fassenden Gewindeflasche (Y 683.1, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) gesammelt und vor der Entsorgung durch Autoklavieren sterilisiert). Um diese Öffnungen herum wurden in kreisförmiger Anordnung 8 weitere Löcher mit 2,5 mm Diameter angelegt; darin wurden später Kausimulatorplatten mit Probekörpern platziert (Abb. 4.2.1b).

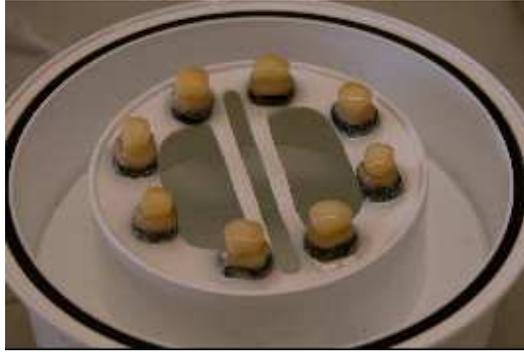


Abbildung 4.2.1b / Exsikkatorplatte mit Probekörpern

In den durchsichtigen Deckel des Exsikkators wurden ebenfalls in kreisförmiger Anordnung 8 Paar (= 16) dicht aneinander liegende Löcher in gleichen Abständen wie auf die Exsikkatorplatte gelegt. Weiterhin wurde eine zweite Exsikkatorplatte verwendet, die ebenfalls dem Apparat angepasst wurde: Der Flügelbereich der Exsikkatorplatte wurde komplett entfernt, analog zum Deckel wurden auch hier 8 Paar (= 16) kreisförmige Bohrungen gelegt, in der Mitte der Exsikkatorplatte machte man eine breite Öffnung. Diese sollte später die Einbringung der Schläuche ermöglichen und als Stütze für Katalysatorhalter für Kohlendioxidentwickler dienen. Diese zweite Exsikkatorplatte wurde dann zentral auf dem Deckel so positioniert, dass die paarweise gebohrten Löcher, von der Exsikkatorplatte und vom Deckel exakt übereinander lagen und mit Hitze und wasserbeständigem Kleber an dem Deckel hafteten. Durch diese kreisförmigen paarweise gelegten Bohrungen wurden Schläuche geführt, mit denen Lösungen auf die Zahnproben gebracht werden konnten. Die Paare der Bohrungen in der zweiten Exsikkatorplatte liegen dicht beieinander. Hierdurch kommen die unteren Enden der Schläuche (2,26 mm Außendiameter) spannungsfrei unmittelbar aneinander zu liegen. Bei dieser Lage der Austrittsöffnungen für die Spüllösungen ist gewährleistet, dass die

Probezähne von zwei unterschiedlichen Lösungen gleichermaßen betropft werden können.



Abbildung 4.3.3 / Reaktionsgefäß mit Probekörpern

Das angefertigte Reaktionsgefäß wurde in dem Brutschrank angebracht.

#### 4.2.2 Brutschrank

Um die Durchführung von Flüssigkeit führenden Schläuche zum oben genannten Reaktionsgefäß zu ermöglichen und gleichzeitig während der Untersuchungen Sichtblick zu behalten, war es notwendig am Brutschrank (Brutschrank Bachofer GmbH, Weilheim, Deutschland) folgende Änderungen vorzunehmen:

Die Doppeltüren des Brutschranks wurden abgebaut und durch zwei 2 x 4 mm starke, zum Brutschrank passende maßgeschnittene Plexiglas-Platten, die aneinander als zweischichtige Türen verklebt waren, ersetzt. Die Anordnung der Doppelschicht war notwendig, um bessere Isolation und Temperaturstabilität im

Brutschrank zu gewährleisten. Für die Befestigung am Brutschrank wurden am rechten Rand über und unter der Plexiglastüre Metallstäbchen verankert.

Auf die rechte Seite dieser Plexiglastür wurden in zwei Reihen (von oben nach unten) 8 Paar (= 16) Bohrungen mit je 2,3 mm Durchmesser gelegt. Diese Bohrungen dienten zur Durchführung der Flüssigkeit führenden Schläuche zum Reaktionsgefäß. In die Mitte des unteren Türdrittels wurde zusätzlich eine Bohrung mit 1 mm Durchmesser gelegt. Dadurch wurde der Abflussschlauch geleitet (Abb. 4.4).

#### 4.2.3 Schlauchpumpen

Alle Medien wurden zu den Proben durch Silikonschläuche (Tygon Standard-schlauch ENFT-04; ISMATEC GmbH, Wertheim-Mondfeld, Deutschland) mit Hilfe von 2 Schlauchpumpen (MPC Standard (ISM 404), ISMATEC GmbH, Wertheim-Mondfeld, Deutschland) transportiert (Abb. 4.4). Jede Schlauchpumpe wurde mit Schlauchkassetten (Pumpenköpfe MS/CA 8-6 ISM 724; ISMATEC GmbH, Wertheim-Mondfeld, Deutschland) und 8 Schläuchen bestückt.

Jede Pumpe kann mit 4 unterschiedlichen Programmen belegt werden, die später nach Bedarf gewechselt bzw. mit anderen Angaben betrieben werden können (siehe Anhang, Kap. 10.2). Die Koordination von abgespeicherten Daten wird durch den in die Pumpen integrierten Mikroprozessor gesteuert.

Vor der Erstinbetriebnahme der Pumpen wurde für jedes benutzte Pumpenprogramm der Schlauch-Innendurchmesser (0.44 mm) und Pumpenkopf-Identifika-

tionscode abgespeichert. Dies wird vom Hersteller empfohlen, um korrekte Pump- und Dosier-Werte zu gewährleisten.

Jede Pumpe war für ein Medium zuständig. Bei beiden Pumpen wurde als Programm-1 Betriebsart „*Intervall-Dosieren / Zeiteinheit*“ gewählt. Dies erlaubt das repetitive Dosieren nach Zeit mit vorgegebener Pausenzeit. Als Fließrate wurde 0,16 ml/min angegeben, Pausenzeit und Dosierzeit jeweils auf 60 min eingestellt.

Bei der für die Remineralisationslösung zuständigen Pumpe wurde noch das Programm-2 „*Pumpen nach Fließrate*“ betrieben, hierbei wurde die Fließrate auf 83,3 µl/min eingestellt.

Um eine möglichst präzise Dosierung zu gewährleisten, wurden die Pumpen nach Herstellerangaben durch Funktion „*Fließrate kalibrieren*“ kalibriert.

Die Programme Nr.1 waren für das alternierende Betropfen der Proben mit Saccharose und künstlichem Speichel in einstündigen Intervallen zuständig. Programm Nr.2 sollte die Speichelfließrate in Nachtsstunden simulieren.

Die Umschaltung von Programm-1 auf Programm-2 sowie das Ausschalten der Pumpen wurde (einmal im Tag) manuell betätigt.

## 4.3 Medien

### 4.3.1 Künstlicher Speichel

Als remineralisierende Lösung wurde in dieser Untersuchung nach Angaben von Matzker und Schreiber (1976) hergestellter künstlicher Speichel verwendet. Dieser aber wurde von Schiffner (1997) so modifiziert, dass dem künstlichen Speichel keine Glykoproteine beigefügt wurde. Der PH-Wert dieser Lösung wurde mittels HCl auf 6,9 eingestellt.

Künstlicher Speichel	PettenkoferInstitut, LMU-München
10 L Aqua destillata	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland
12 g KCL	
8,43 g NaCl	
2,61 g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	
1,46 g CaCl <sub>2</sub>	

### 4.3.2 Menschlicher Speichel

Um den Bakterien die Anheftung an den Zahnhartsubstanzen zu ermöglichen, sollte auf den Proben eine Pellikelschicht etabliert werden. Hierfür wurde von freiwilligen Probanden gewonnener Speichel verwendet. Dieser wurde sofort nach der Entnahme aus dem Mund durch Vakuumfiltration mit Filtern, Porengröße 0,2 µm (Stericup-Vacuum-Filtrationssystem, 12ST, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland), von Bakterien befreit und in 1ml kleinen Portionen bei -18 °C (max. 1 Woche lang) tiefgefroren (Schiffner 1997). Jede Woche wurde frischer Speichel gewonnen.

### 4.3.3 Saccharose Lösung

Als Nährsubstrat für Bakterien diene 10 %ige Saccharose Lösung. Diese sollte die Bakterienbildung von extrazellulären Polysacchariden ermöglichen und zur vermehrten Säureproduktion beitragen.

Saccharose Lösung	PettenkoferInstitut, LMU-München
10 l Aqua destillata 1000 g Saccharose	Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland

### 4.3.4 Bakterielle Suspension

Zur Bildung sekundärkariöser Läsionen wurde *S. mutans* (ATCC 25175, aus dem mikrobiologischen Labor der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie, München, Deutschland) eingesetzt. Der Keim war in flüssigem Stickstoff schockgefroren gelagert. Vor der Erstverwendung wurde *S. mutans* mit 500 µl Thioglykolat-Bouillon (BD Diagnostic Systems; Heidelberg, Deutschland) betropft und unter anaeroben Bedingungen bei 37 °C 4 Stunden aufgetaut.

Weiterhin wurde *S. mutans* auf Trypticase-Soja-Agar-Platten (BD Diagnostic Systems; Heidelberg, Deutschland) vorkultiviert. Einzelne Kolonien wurden anschließend in 50 ml Thioglykolat-Bouillon gebracht und im Brutschrank unter anaeroben Bedingungen 12 Stunden bebrütet. Die entstandene bakterielle Suspension wurde 20 Minuten lang bei 1200 g zentrifugiert, danach wurde der Überstand abgenommen, so dass im Zentrifugationsröhrchen nur 5 ml Suspension verblieben.

Diese wurden zur Kontamination der Zahnproben verwendet. Dabei wurden jeweils 0,05 ml auf jede Probe appliziert.

#### 4.4 Erzeugung sekundärkariöser Läsionen



Abbildung: 4.4 / Künstliche Mundhöhle

Die Zahnproben wurden in die fertig aufgebaute künstliche Mundhöhle (Abb. 4.4) eingebracht und Karies fördernden Bedingungen ausgesetzt. Für jede Versuchsreihe wurden 8 Zähne verwendet, die unmittelbar vor dem Versuchsbeginn in 70 %igem Ethanol 20 Minuten lang desinfiziert wurden. Vorversuche haben gezeigt, dass längeres Einwirken von 70% Ethanol zur Austrocknung von freigelegtem Dentin führte, was sich in Form von weißlichen Flecken auf dem Gewebe offenbarte. Aus diesem Grund wurde von lang andauernder Desinfizierung der Zähne mit 70 % Ethanol oder gar Heißluftsterilisation Abstand genommen.

Des Weiteren orientiert sich das vorliegende Kariesmodell an den Vorgaben von Schiffner (1997). Am ersten Tag der Untersuchung wurde auf jede Zahnprobe 0,05 ml menschlicher Speichel appliziert. Dieser verblieb dort für eine Stunde, um dort eine Pellicel zu bilden. Danach wurden 0,05 ml Bakteriensuspension gegeben. Diese verblieb dort ebenfalls eine Stunde lang. An weiteren Tagen während der gesamten Untersuchungsdauer wurden die Zähne zuerst mit menschlichem Speichel und unmittelbar danach mit bakterieller Suspension kontaminiert, so dass beide Medien gleichzeitig eine Stunde lang auf die Zähne einwirkten.

Danach wurden die Zahnproben alternierend (je eine Stunde) mit Saccharose-Lösung und künstlichem Speichel versorgt. Fließraten der Lösungen wurden auf 0,16 ml/min (entspricht ca. 10 ml/h) eingestellt. Die Zufuhr von Saccharose-Lösung erfolgte in 8 Betropfungsabschnitten pro Tag, so wurde die Karies fördernde Ernährung nachgeahmt. Um Nachtruhezeiten zu simulieren, wurden die Zähne für sieben Stunden ausschließlich mit künstlichem Speichel versorgt. In dieser Zeit betrug die Fließrate 83,3  $\mu$ l/min (entspricht ca. 5 ml/h).

Dieser gesamte Zyklus wurde an 5 Tagen in der Woche wiederholt. An zwei Tagen wurde den Proben ausschließlich remineralisierender künstlicher Speichel (83,3  $\mu$ l/min) zugeführt.

Um die Absenkung der Inkubationstemperatur zu vermeiden, wurden die Spüllösungen vor der Verwendung bis 37 °C aufgewärmt und auf die ebenfalls bis 37 °C vorgeheizte Heizplatte aufgestellt. So war gewährleistet, dass die Inkubations-temperatur konstant zwischen 36 – 37 °C lag.

Für ein anaerobes Milieu sorgte ein ins Reaktionsgefäß eingebrachter Kohlendioxidentwickler (BD GasPak 100-System; BD Diagnostic Systems; Heidelberg, Deutschland). Jeden Tag wurde ein neuer Beutel verwendet.

Vor Beginn, ebenso wie nach dem Ende jedes Versuchsabschnittes, wurde der künstliche Speichel, die Saccharoselösung (bzw. Abfallflüssigkeit) und das Reaktionsgefäß mit sämtlichen Zuleitungsschläuchen bei 120 °C heißluftsterilisiert. Der Brutschrank wurde mit Aseptisol (Bode Chemie GmbH) desinfiziert.

Alle Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme aus der künstlichen Mundhöhle mit Leitungswasser abgespült und entsprechend dem unter Kap.: 4.7 und 4.8 beschriebenen Muster ausgewertet.

#### **4.5 Untersuchungsabschnitt I:** *Eignung der gewählten Versuchsanordnung für die Erzeugung von sekundärkariöser Läsionen und Bestimmung der Versuchsdauer*

In ersten Untersuchungsabschnitt sollte geklärt werden, ob die gewählte Versuchsanordnung für die Erzeugung von Sekundärkaries ähnlichen Läsionen geeignet war.

Weiterhin sollte auch die optimale Versuchsdauer bestimmt werden. Dabei, um einige Fragen bezüglich der Langzeitwirkung von Testmaterialien zu beantworten, wurde ein Versuchsablauf von bis zu 8 Wochen angestrebt. Die minimale Versuchsdauer wurde auf 6 Wochen festgelegt.

Hierzu wurden die Hälften der Proben, jeweils ein Zahn jeder Gruppe, nach sechs Wochen aus der künstlichen Mundhöhle entnommen, die weiteren Proben verblieben 8 Wochen in der Versuchsanordnung.

#### 4.5.1 Überprüfung der Stoffwechselaktivität der Plaque

Am Ende der 1., 4., 6. und 8. Woche des ersten Untersuchungsabschnittes erfolgte die Kontrolle der Stoffwechselaktivität der artifiziellen Plaque. Dafür wurden von der im Schmelzbereich der Zahnproben angewachsenen Plaque winzige Stichproben entnommen und mit „LIVE/DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit, Nr. L-7012“ (Molecular Probes, Eugene, USA) angefärbt.

Zur Durchführung der Doppelfärbung wurden die beiden Komponenten (A: der grün fluoreszierende DNA-bindende Farbstoff SYTO 9 und B: der rot fluoreszierende DNA-bindende Farbstoff Propidiumiodid) von „LIVE/DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit“, zu gleichen Mengen gemischt und 3 µl von dieser Mischung in 1 ml deionisiertes Wasser gegeben und gründlich vermischt. Schließlich wurde die auf dem Objektträger (Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) verteilte Plaquemasse mit dieser Suspension betropft und 15 Minuten lang bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert.

Danach wurden die Objektträger unter Mikroskop (Axioskope 2, MAT, Carl Zeiss Jena GmbH, Göttingen, Deutschland) mit dem Filter FITC: Ex 470 nm, Em 525 nm untersucht.

Digitale Bilder wurden mit der Bildanalysesoftware Axiovision (SP2, Carl Zeiss Jena GmbH, Göttingen, Deutschland) aufgenommen.

#### **4.6. Untersuchungsabschnitt II und III: Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundärkariösen Läsionen.**

Nachdem die gewünschte Versuchsdauer bestimmt war, sollten in Untersuchungen II und III der Einfluss der verschiedenen Restaurationsarten auf die Bildung von Sekundärkaries geklärt werden. Hierzu wurden alle Zahnproben 8 Wochen in der künstlichen Mundhöhle den Karies fördernden Bedingungen, wie (Kap.4.4) angegeben, unterzogen. Beide Untersuchungen wurden identisch gestaltet. Diese Vorgehensweise war notwendig, denn dadurch sollten mögliche Zufallsergebnisse vermieden und Probenzahl verdoppelt werden, was wiederum die Aussagekraft der ermittelten Ergebnisse erhöhen sollte.

#### **4.7 Messungen in Mikro-CT (Mikrocomputertomography)**

Zum Messen der auf den Zähnen entstandenen Demineralisationen wurde das Mikro-CT ( $\mu$ CT 40; SCANCO Medical AG, Bassersdorf, Schweiz) verwendet.

##### **4.7.1 Funktionsprinzip von $\mu$ CT**

Im Wesentlichen stellt  $\mu$ CT eine Miniaturform der klinisch verwendbaren Axial-Computer-Tomography (CAT) dar, wird aber ausschließlich für Laborzwecken genutzt (Mercer & Anderson 1996). In beiden Methoden werden Strukturen erkannt, indem das Gewebe aus verschiedenen Richtungen (Projektionen) heraus mit Röntgenstrahlen durchstrahlt wird. Während der Adsorption interagieren Röntgenphotonen mit Atomen des untersuchten Objekts und die Strahlungsinten-

sität der ausgesandten Strahlen wird in Abhängigkeit von der Atom-Dichte des Materials unterschiedlich abgeschwächt (Attenuation) (Davis & Wong 1996). Detektoren zeichnen diese Strahlen auf und liefern die Daten für die weitere Rekonstruktion. Der Intensitätsverlust ausgesandter Strahlen wird durch ein mathematisches Verfahren (Rückprojektion) zum linearen Schwächungskoeffizient ( $\mu$ ) definiert und dargestellt in verschiedenen Grauwerten als CT-Bild. In jedem Pixel dieses CT-Bildes ist der CT-Wert gespeichert, der in Hounsfield-Units (HU) angegeben wird.

$$\text{CT-Wert} = (\mu_{\text{Gewebe}} - \mu_{\text{H}_2\text{O}}) / \mu_{\text{H}_2\text{O}} \cdot 1000 \text{ HU}$$

Viele benachbarte transversale Schichten ergeben einen Volumendatensatz, der durch einen Algorithmus berechnet wird (Nowotny WS 02/03; Engelke et al. 1999). Diese Daten können zwei- oder dreidimensional rekonstruiert werden und für qualitative oder quantitative Analyse verwendet werden. (Dowker et al. 1997; Mercer & Anderson 1996; Peters et al. 2003; Rhodes et al. 2001).

Im Gegensatz zu klinischem CT-Scannen, stehen bei der  $\mu$ CT die Strahlungsquelle und der Detektor fest und das zu untersuchende Objekt rotiert. Diese zerstörungsfreie Methode erlaubt die Darstellung von inneren Strukturen mit höherer Ortsauflösung (5 - 50  $\mu\text{m}$ ) (Engelke et al. 1999), wodurch die Unterscheidung zwischen dichter und weniger dichter Materie deutlich verbessert wird.

#### 4.7.2 Durchführung der $\mu$ CT Messungen

Für die Durchführung der  $\mu$ CT Messungen wurden Zahnproben von Kausimulatorplatten so abgesägt (Buehler Isomet Low speed saw), dass es von jedem Zahn 2 separate Teile (mesiale-Hälfte und distale-Hälfte) gab. Jede Hälfte von jeder Zahnprobe wurde mit der Schmelzseite an den dünnen Holzstäbchen mit Sekundenkleber (UHU GmbH & Co. KG. Bühl (Baden) in einer Reihe im Abstand von 3 mm befestigt. Anschließend wurde das Stäbchen mit den Probekörpern in einem aus transparenten Polyakryl angefertigten, 16.4 mm Diameter großen zylindrischen Probenhalter angebracht. Auf den Boden des Probenhalters wurde Silikonmasse ohne Anwendung des Katalysators („Optosil Comfort“ (putty); Heraeus Kulzer; Deutschland) gestopft; diese verhinderte, dass das Stäbchen mit den Proben während der Messungen die Position veränderte, was zu Artefakten hätte führen können. Um das Austrocknen der Proben während der Messungen zu verhindern, wurde im Probenhalter auch eine in Aqua destillata getränkte Watte-Kugel platziert und der Probenhalter mit einem Parafilm (Parafilm M, Pechiney Plastic Packaging, Chicago, USA) hermetisch verschlossen. Anschließend wurde der Probenhalter am computerkontrollierten Rotationstisch montiert. Solch eine Anordnung ermöglichte es, mehrere Proben rasch nacheinander zu messen.

Alle Proben wurden mit linearer Auflösung von 8  $\mu$ m bei einer Röhrenspannung von 70 kVp und einer Stromstärke von 114  $\mu$ A und 300 ms Integrationszeit gemessen. Als Referenzlinie diente der untere Rand der Füllung. Auf diese Weise wurde je Probe eine Strecke von 2 - 3,2 mm gescannt, wobei die Schichtdicke 8  $\mu$ m betrug. So sind 250 - 400 Schichten entstanden, woraus man Datensatzgrößen teilweise bis zu 4 GB erreichte.

$\mu$ CT-System wurde mit fünf verschiedenen Hydroxylapatit-Phantomen (0, 100, 200, 400 und 800 mg HAP/cm<sup>3</sup>) kalibriert. Der Schwächungskoeffizient und Helligkeitswerte sowie ihre Standardabweichung wurden wöchentlich überprüft, um die Stabilität von den  $\mu$ CT-Messungen zu sichern.

#### 4.7.3 Beurteilung der $\mu$ CT-Bilder für die Auswertung

Die gemessenen Projektionen wurden auf der Festplatte des angeschlossenen Computers unter der jeweiligen Probennummer abgespeichert. Nach Abschluss aller Messungen des jeweiligen Untersuchungsabschnittes wurden die Daten als ISQ-File auf eine externe Festplatte übertragen. Da die, während der Messungen entstandenen Übergröße-Raster-Bilder (4 GB) den Rechner überlasteten, wurden die Bilder mit einem speziell entwickelten Computerprogramm („isq-cropper.zip“; Prof. Kunzelmann) auf die Maximalgröße von 1 GB verkleinert.

Erfasst wurden die zweidimensionalen Tomogrammdaten mit der Bildanalysesoftware ImageJ (Version 1.37v; Java 1.6; Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA). Um Regeln für die Auswahl des Auswertungsbereiches innerhalb der Tomogramme festzulegen, wurde zunächst eine visuelle Auswertung der Raster-Bilder durchgeführt. Diese hat ergeben, dass wegen Artefakten, die in unterschiedlicher Form und auf unterschiedlichen Ebenen der  $\mu$ CT-Bilder auftraten und auch wegen unerwarteter Zufallsfehler (Die auch in zweiten und dritten Untersuchungsabschnitten nicht vermieden werden konnten) nicht alle Schnittbilder ausgewertet werden konnten (siehe Kap.5.1.3 und 5.1.4).

Nach einigen Überlegungen (siehe Kap.5.1.4) wurde entschieden, pro Zahnhälfte 10 zusammenhängende einwandfreie Schnittbilder (entspricht 80  $\mu\text{m}$  starkem Bereich) zwischen 70sten und 120sten Schnittbildern (entspricht 560  $\mu\text{m}$  bis 960  $\mu\text{m}$  von der Kaufläche entfernt) für die weitere Bestimmung des Mineralverlusts und Läsionstiefe auszuwählen.

Weiterhin erfolgte die Auswertung der ausgewählten Bereiche mit einer speziell entwickelten Software (Kunzelmann; „KHKs MicroCT\_goes\_MicroRadiography“ für ImageJ; / Siehe: <http://www.dent.med.uni-muenchen.de/~kkunzelm/exponent-0.96.3/index.php?section=69>). Mit dieser kann die Läsionstiefe (Lt) und der Mineralverlust (delta Z) gemessen werden.

#### 4.7.4 Auswertung der $\mu\text{CT}$ -Schnittbilder

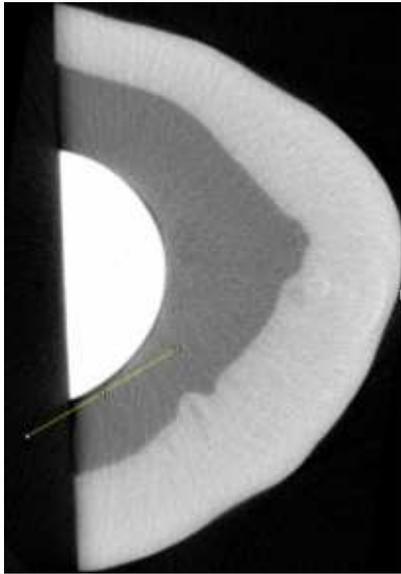
In ImageJ erfasste Bilder wurden zuerst linear markiert. Es wurden je Zahnhälfte jeweils rechts und links der Füllung 4 Markierungen ausgeführt. Die erste Markierung erfolgte direkt am Füllungsrand, weitere Markierungen erfolgten 5, 10 und 15 Pixel von erster Markierung entfernt. Bei 8  $\mu\text{m}$  Auflösung entsprachen diese 40  $\mu\text{m}$ ; 80  $\mu\text{m}$  und 120  $\mu\text{m}$  Entfernung vom Füllungsrand.

Dabei wurden folgende Definitionen getroffen: Messungen direkt am Füllungsrand sollten einen Ausschluss über die entstandenen sekundären Wandläsionen geben. Messungen, die 80  $\mu\text{m}$  von Kavitätenrand entfernt durchgeführt wurden, stellen sekundäre Außenläsionen dar, die sich analog der Primärkaries entwickeln und in unmittelbarer Nachbarschaft einer Füllung auftreten. Der 40  $\mu\text{m}$  vom Kavitätenrand entfernte Bereich repräsentiert eine Vereinigungsstelle von Außen-

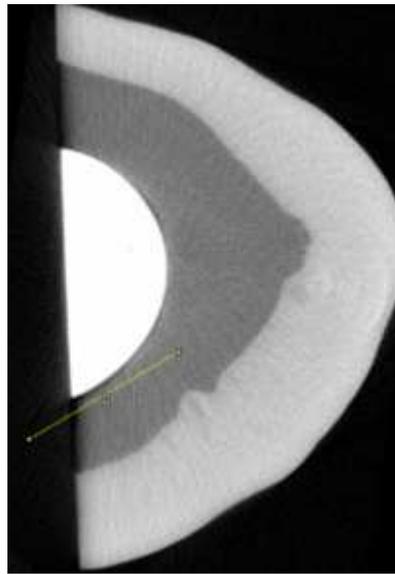
und Wandläsion. 120 µm vom Füllungsrand entfernte Läsionen wurden als Flächen der Primärkaries definiert.

Die Markierungslinie fing im Hintergrundbereich des Bildes an und reichte bis zu gesundem Dentin bzw. bis zum Bereich, wo makroskopisch keine Demineralisationen zu erkennen waren. Um den an die Füllung angrenzenden Bereich möglichst auf langer Strecke zu erfassen, wurden bei rundlichen Restaurationen tangentielle Linien gewählt (Abb. 4.7.4 (a, b, c, d)).

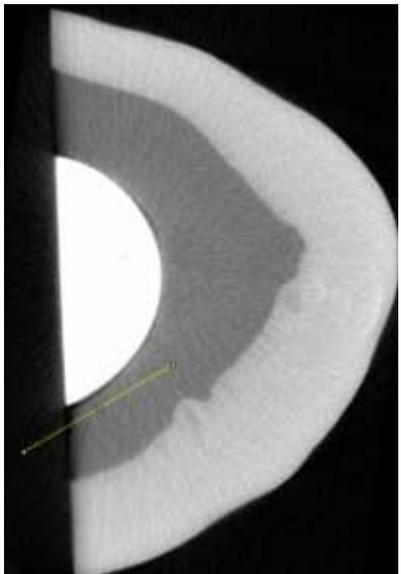
Vor dem Ausführen der Markierungen wurden der an den Interessenregionen angrenzende Hintergrundbereich des Bildes mit ImageJ Funktion „Clear Outside“ entfernt.



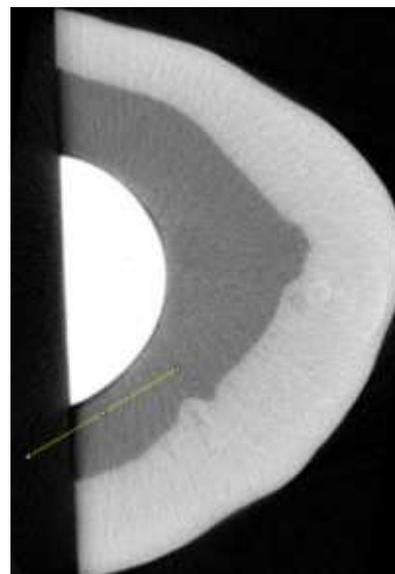
a) direkt am Füllungsrand



b) Entfernung von 5 Pixels (40  $\mu\text{m}$ )



c) Entfernung von 10 Pixels (80  $\mu\text{m}$ )



d) Entfernung von 15 Pixels (120  $\mu\text{m}$ )

Abbildung: 4.7.4 (a,b,c,d) / Markierungen auf der linken Seite der Füllung

Mit Hilfe von Plugins “KHKs MicroCT\_goes\_MicroRadiography” wird der Grauwert des CT-Bildes entlang dieser Linie grafisch dargestellt. Weiterhin wird die Referenzlinie des gesunden Bereichs definiert (hier: grün) und der Interessensbereich (hier: blau) manuell markiert (Abb.: 4.7.4e).

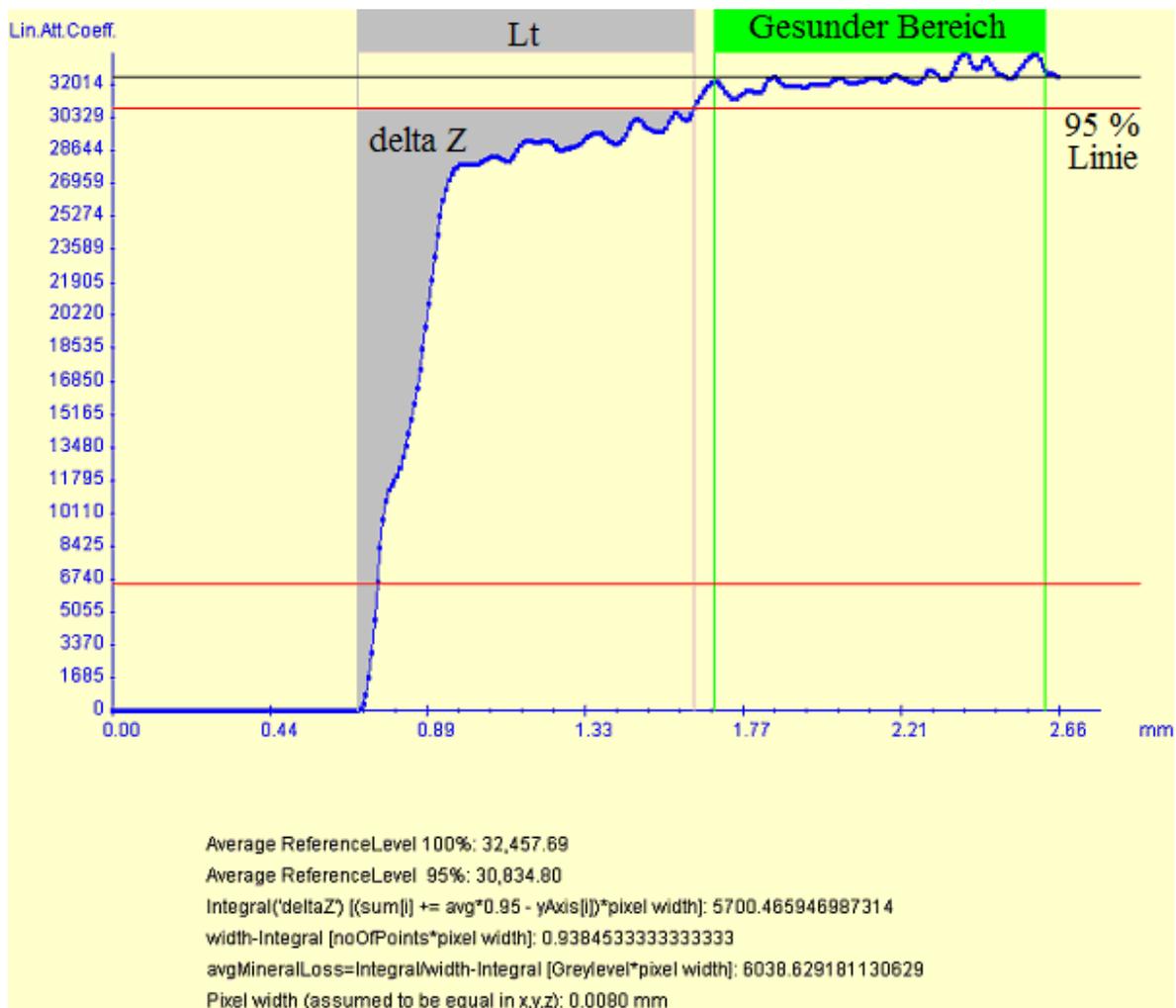


Abbildung: 4.7.4e

Die höchste Linie stellt den Durchschnittswert dar, der innerhalb des grünen Bereichs berechnet wurde (= 100 %). Die folgende Linie stellt die 95 % Linie dar

(Anfang der gesunden Zahnhartsubstanz bzw. Ende der Läsion), dies ist ein statistisch definiertes Maß, das normalerweise benutzt wird, um  $\Delta Z$  zu berechnen. Da der Hintergrund des Bildes vor dem Auswertungsbeginn manuell definiert und abgetrennt war, wird der Anfang der Läsion in dieser Untersuchung bei 0 % definiert.

#### 4.7.4.1 Berechnung des Mineralverlustes ( $\Delta Z$ )

Für die Auswertung wurden die  $\mu$ CT-Daten in einer Auflösung von 16-bit verwendet (Datentyp "short"). Diese Daten können über eine lineare Skalierung (in unserem Fall mit 4096) in den Linear Absorption Coefficient (LAC) umgerechnet werden. Die Einheit des LAC beträgt mgHAP/cm<sup>3</sup>. Die Eichung des  $\mu$ CT erfolgt wöchentlich mit Hilfe eines Hydroxylapatitphantoms, das verschiedene Hydroxylapatitproben unterschiedlicher aber bekannter Dichte enthält. Der Grund, warum für die Routineauswertung 16-bit Werte anstelle von LAC-Werten verwendet werden, hängt mit der Datenrepräsentation zusammen. Für die Darstellung von LAC Werten muss der Datentyp "float" verwendet werden. Für float-Werte benötigt man aber 32-bit, wodurch der Speicherbedarf für die Datensätze doppelt so groß wird. Aufgrund der linearen Skalierung enthalten die 16-bit Werte die gleiche Information wie die 32-bit LAC Werte, so dass routinemässig mit den ressourcenschonenderen 16-bit Daten gearbeitet wurde.

Für die Evaluation wurden je 10 ausgewählte Schnittbilder in der Z-Projektion gemittelt, um diese zu einem einzigen Schnittbild zu konvertieren. Auf diese Weise hat man zur Mikroradiographie vergleichbare Daten. Ein über 10 Schichten gemitteltes Bild entspricht einem 80  $\mu$ m dicken Zahnschnitt (1 Voxel =

8 x 8 x 8  $\mu\text{m}^3$ ). Weiterhin wurde entlang einer Linie (= region of interest = ROI) der Meßbereich für die Darstellung des Grauwertprofils definiert (siehe Kap: 4.7.4.). Der delta Z Wert entspricht dem graumarkierten Flächenanteil unter der Kurve. Die Fläche wird als Integral berechnet. Da es sich um diskrete Messwerte handelt kann das Integral als die Summe der einzelnen Messwerte zwischen der blauen Linie (Abb. 4.7.4 e = Grauwert) und der roten Linie (Abb. 4.7.4 e = 95 % Wert des Mittelwertes für "gesunde Zahnhartsubstanz", gesund entspricht hier dem Begriff "nicht-demineralisiert") bestimmt werden.

Um den Mineralverlust delta Z in die aus Publikationen bekannte Einheit umzurechnen, muss der aktuelle Wert durch 4096 dividiert und mit der Pixelbreite multipliziert werden. Die Pixelbreite betrug in unserem Fall 8  $\mu\text{m}$ . Diese Berechnungsvorschrift ergibt den Mineralverlust in der Einheit [mgHAP/cm<sup>3</sup> \*  $\mu\text{m}$ ]. Gleichzeitig wird die Läsionstiefe (Lt) bestimmt, indem die Pixelzahl der kariös definierten Strecke bis zu dem Punkt berechnet wird, wo der Mineralverlust 5 % geringer ist als im gesunden Bereich. Die Auswertungen basieren auf den von Angmar et al. (1963), Gelhard & Arends (1984) und De Josselin de Jong et al. (1987) beschriebenen Methoden.

#### **4.8 Statistische Auswertungen**

Für die statistische Auswertung wurden die ermittelten Messwerte des jeweiligen Untersuchungsabschnittes (I, II und III) in Abhängigkeit des Abstands der Messstelle zum Füllungsrand in Auswertungsgruppen, wie in Tab.: 4.8 angegeben, unterteilt und vorerst im Tabellenkalkulationsprogramm Excel 2007 der Firma Microsoft Corporation (Redmond, USA) erfasst.

Weiterhin erfolgte die Analyse mit der Statistiksoftware SPSS Version 14.1 (SPSS Inc. Headquarters, Chicago, Illinois, USA) für Windows.

Tabelle: 4.8 / Verteilung der Auswertungsgruppen in Abhängigkeit des Abstands der Messstelle zum Füllungsrand.

Auswertungsgruppen	Markierung der Messstelle
F <sub>1</sub> ; PB <sub>1</sub> ; SB <sub>1</sub> ; OB <sub>1</sub>	direkt am Füllungsrand
F <sub>5</sub> ; PB <sub>5</sub> ; SB <sub>5</sub> ; OB <sub>5</sub>	Entfernung von 5 Pixels (40 µm)
F <sub>10</sub> ; PB <sub>10</sub> ; SB <sub>10</sub> ; OB <sub>10</sub>	Entfernung von 10 Pixels (80 µm)
F <sub>15</sub> ; PB <sub>15</sub> ; SB <sub>15</sub> ; OB <sub>15</sub>	Entfernung von 15 Pixels (120 µm)

4.8.1 Untersuchung I: *Eignung der künstlichen Mundhöhle zur Erzeugung von Sekundärkaries ähnlichen Demineralisationen und Bestimmung optimaler Versuchsdauer.*

Messwerte sollten hinsichtlich folgender Stellungen getestet werden:

Bestimmung der Unterschiede zwischen den Gruppen  $W^6$  und  $W^8$  bezüglich der Mineralkonzentration (delta Z) und Läsionstiefe (Lt). Dabei wurden die von allen Gruppen (F, PB, SB, OB) gewonnenen Messwerte in Abhängigkeit von der Verweildauer in der künstlichen Mundhöhle und der Abstand der Messstelle zum Füllungsrand wie in Tab.: 4.8.1 zusammengefasst.

Die Auswertungsgruppen  $W^6_1$  &  $W^8_1$ ,  $W^6_5$  &  $W^8_5$ ,  $W^6_{10}$  &  $W^8_{10}$  und  $W^6_{15}$  &  $W^8_{15}$  wurden separat miteinander verglichen.

Für jede Auswertungsgruppe wurde der Mittelwert, die Standardabweichung und der Standardfehler für alle gemessenen Parameter berechnet und die Varianzgleichheit mit dem Levene-Test geprüft. Darauf folgend, um die statistische Bedeutsamkeit des bestehenden Mittelwertsunterschieds zu klären, wurde der T-Test für die Mittelwertgleichheit durchgeführt.

Tabelle: 4.8.1 / Verteilung der Auswertungsgruppen in Abhängigkeit von der Verweildauer in künstlicher Mundhöhle

<b>Untersuchungsdauer</b>	<b>Auswertungsgruppen</b>
6 Wochen	$W_1^6$ (F <sub>1</sub> , PB <sub>1</sub> , SB <sub>1</sub> & OB <sub>1</sub> )
	$W_5^6$ (F <sub>5</sub> , PB <sub>5</sub> , SB <sub>5</sub> & OB <sub>5</sub> )
	$W_{10}^6$ (F <sub>10</sub> , PB <sub>10</sub> , SB <sub>10</sub> & OB <sub>10</sub> )
	$W_{15}^6$ (F <sub>15</sub> , PB <sub>15</sub> , SB <sub>15</sub> & OB <sub>15</sub> )
8 Wochen	$W_1^8$ (F <sub>1</sub> , PB <sub>1</sub> , SB <sub>1</sub> & OB <sub>1</sub> )
	$W_5^8$ (F <sub>5</sub> , PB <sub>5</sub> , SB <sub>5</sub> & OB <sub>5</sub> )
	$W_{10}^8$ (F <sub>10</sub> , PB <sub>10</sub> , SB <sub>10</sub> & OB <sub>10</sub> )
	$W_{15}^8$ (F <sub>15</sub> , PB <sub>15</sub> , SB <sub>15</sub> & OB <sub>15</sub> )

#### 4.8.2 Untersuchungen II und III: *Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundärkariösen Läsionen*

Messwerte von beiden Untersuchungen (II und III), die wie in Tab.:4.8 angegeben unterteilt waren, wurden zusammengefasst und auf die folgenden Stellungen hin getestet:

Unterschiede bezüglich Mineralkonzentration (delta Z) und Läsionstiefe (Lt) zwischen den Gruppen F, PB, SB, OB. Auch hier wurden die Auswertungsgruppen F<sub>1</sub>,

PB<sub>1</sub>, SB<sub>1</sub> & OB<sub>1</sub>; F<sub>5</sub>, PB<sub>5</sub>, SB<sub>5</sub> & OB<sub>5</sub>; F<sub>10</sub>, PB<sub>10</sub>, SB<sub>10</sub> & OB<sub>10</sub> und F<sub>15</sub>, PB<sub>15</sub>, SB<sub>15</sub> & OB<sub>15</sub> separat ausgewertet. Hierfür wurde die One-Way-Analyse der Varianz (ANOVA) mit anschließendem Tukey-B (Aufdeckung homogener Untergruppen) post-hoc-Test verwendet.

Bei allen Tests wurde ein kritisches Irrtumswahrscheinlichkeitsniveau von 5 % ( $\alpha = 0.05$ ) festgelegt. Unterschiede wurden als signifikant betrachtet, wenn die Wahrscheinlichkeit (p-Wert) unter 5 % lag ( $p < 0.05$ ).

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Visuelle Beurteilung der Ergebnisse

In diesem Kapitel beschriebene Prozesse oder Veränderungen waren in allen Untersuchungsabschnitten identisch, mit Ausnahme des Abschnitts 5.1.2.2., denn die Überprüfung der Stoffwechselaktivität der Plaque wurde nur im Untersuchungsabschnitt I durchgeführt.

#### 5.1.1 Künstliche Alterung der Zähne

Nach künstlicher Alterung bildeten sich in GIZ-Füllungen kleine Risse, diese waren bereits nach visueller Betrachtung der Proben auffallend (Abb. 5.1.1).

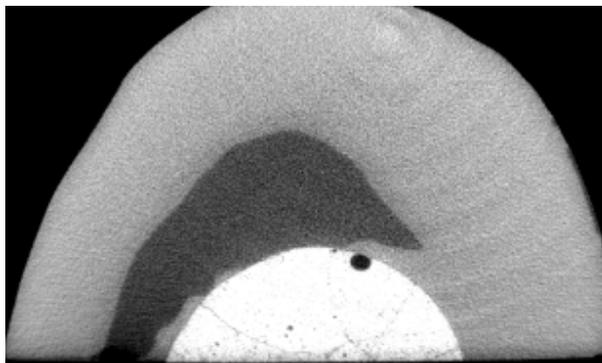


Abbildung 5.1.1 / Risse in GIZ-Füllung  
( $\mu$ CT-Aufnahme)

Andere Gruppen zeigten makroskopisch keine Veränderungen im Material. Nach mechanischer Belastung war lediglich auf allen Proben die Aufschlagstelle des Antagonisten in Form einer Vertiefung im Füllungsmaterial zu erkennen, wobei der

Verschleiß des Materials in Gruppe F stärker ausgeprägt war als in anderen Gruppen. Überraschenderweise war bei der Gruppe OB makroskopisch kein Unterschied zu den Gruppen PB und SB nachzuweisen.

### 5.1.2 Plaquewachstum

Bereits 48 Stunden nach Einführung in den Mundsimulator war eine Plaquebildung auf den Zahnproben sichtbar. Nach 7-tägiger Inkubation konnte ein generelles Plaquewachstum beobachtet werden.

Die Plaque wies eine weiche weiß-gelbliche, klebrige Konsistenz auf und erreichte in 6 Wochen eine Dicke bis zu 5 mm, das makroskopisch einem unbeeinflussten Plaquewachstum entsprach (Abb. 5.1.2).

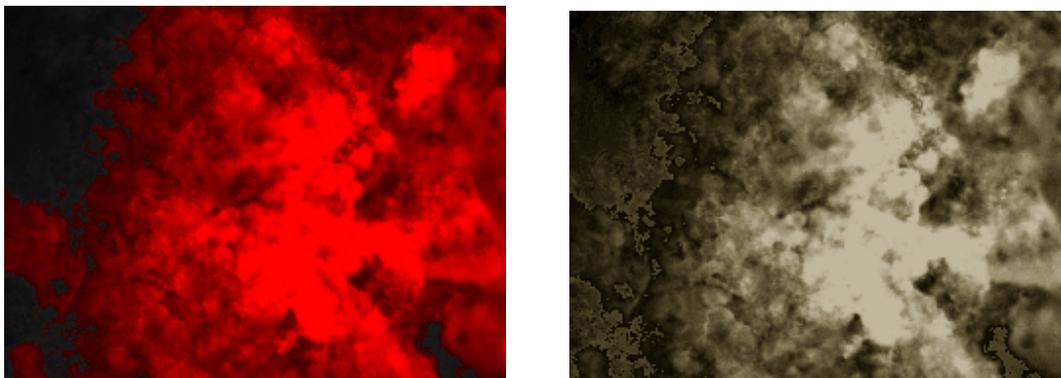


Abbildung 5.1.2. 6 Wochen alte Plaque. (Axioskope 2, MAT, Carl Zeiss: Filter: Texas Red (580 nm, BS 600 nm, Em > 610 nm); Objektiv: Plan Neofluar 2,5X /0,075; Skalierung 1,0832  $\mu$ m; Belichtungszeit 224,8 Millisek.)

Nach einer 6 Wochen langen Inkubation der Proben in der künstlichen Mundhöhle erreichte die Plaque eine Volumenmenge von über 5 mm und wuchs über die

Proben hinaus. Der Volumenzuwachs der Plaque führte dazu, dass die oberen Schichten der Plaque nicht mit der Zahnoberfläche, sondern nur mit untenliegenden Plaqueschichten verbunden waren und durch ihre Masse die am Zahn haftenden Bakterien-schichten derart belasteten, dass die Plaquemasse zum Abrutschen neigte. Daher kam es durch Einwirkung der Spüllösungen zum teilweisen Ablösen der oberen Plaqueschichten von der Zahnoberfläche.

#### *5.1.2.1 Überprüfung der Stoffwechselaktivität der Plaque*

Nach 1, 4, 6 und nach 8 Wochen entnommene und mit Live / Dead back Lite Suspension bearbeitete Stichproben aus artifizieller Plaque zeigten überwiegend grün gefärbte lebensaktive Bakterienkolonien (Abb.: 5.1.2.1 a/b).

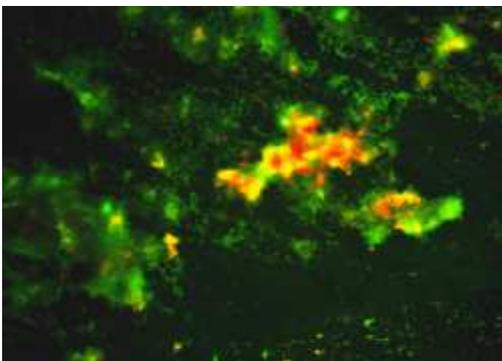


Abbildung 5.1.2.1a  
(6 Wochen alte Plaque)

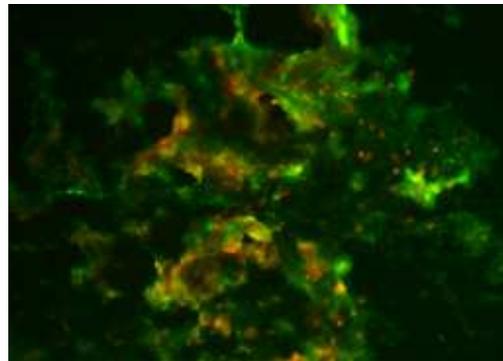


Abbildung 5.1.2.1b  
(8 Wochen alte Plaque)

(Axioskope 2, MAT, Carl Zeiss: Filter: FITC (Ex 470 nm, Em 525 nm); Objektiv: Plan Neofluar 2,5X / 0,075; Skalierung 1,0832  $\mu\text{m}$ ; Belichtungszeit 952,59 Millisek.)

### 5.1.3 Bildung kariöser Läsionen

Ungeachtet dessen, ob Proben 6 oder 8 Wochen im Mundsimulator geblieben waren, zeigten sich an allen nach der Plaque-Entfernung weißliche Demineralisationen im Schmelzbereich, die klinisch einer „White-spot-Läsion“ entsprachen (Abb. 5.1.3c). Bei dem an die Füllung approximal angrenzenden Dentin konnte schon makroskopisch Sekundärkaries mit Substanzverlust detektiert werden

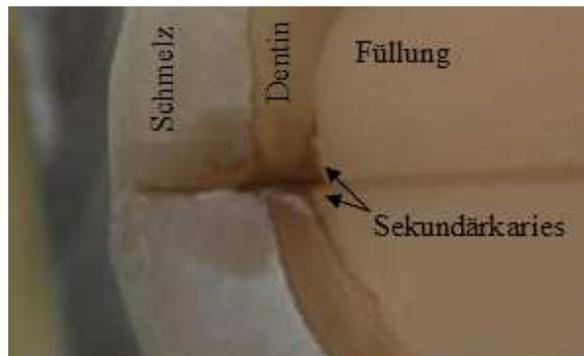


Abbildung 5.1.3a / Sekundärkaries

und bei einigen Proben konnte ein Randspalt zwischen Dentin und Füllung festgestellt werden (Abb. 5.1.3b).

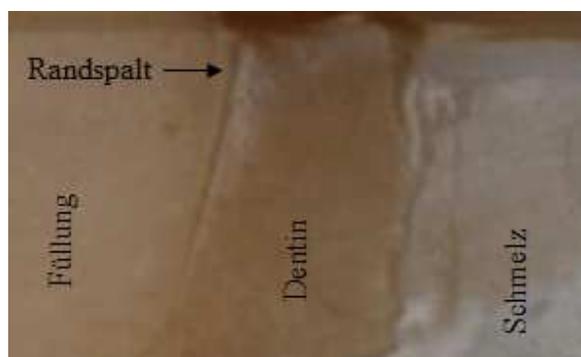


Abbildung 5.1.3b / Randspalt

Mehr als die Hälfte der Proben der Gruppe OB, die ohne Haftvermittler nur mit Kompositfüllung gefüllt waren, wiesen nach dem Abspülen mit Wasser einen Füllungsverlust auf (Abb. 5.1.3c).

Nach Versuchen wurde auf einigen Proben eine dünne weißlich demineralisierte Schmelzschicht, die den Dentinbereich partiell oder in einzelnen Fällen auch ganz überdeckte, sichtbar (Abb. 5.1.3c).

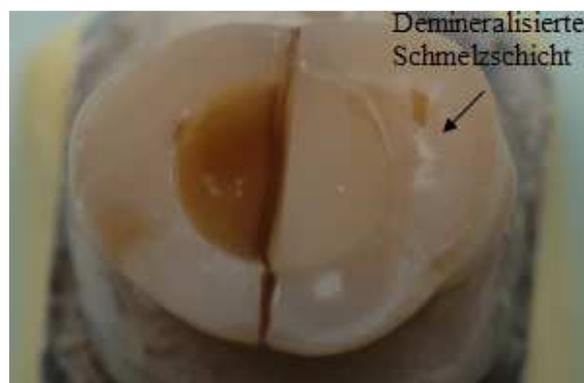


Abbildung 5.1.3c. / Füllungsverlust

Diese Schmelzschicht konnte vor dem Versuchsbeginn nicht erkannt werden. Da das tiefere Abschleifen oder Abschneiden des Kauflächenbereichs bei vielen Zähnen zur drastischen Ausdünnung der verbliebenen Dentinschicht führte (unter 2 mm), konnte dieses Problem auch in weiteren Untersuchungen nicht vermieden werden.

## 5.1.4 Visuelle Beurteilung der $\mu$ CT Aufnahmen

### 5.1.4.1 Randspaltbildung

$\mu$ CT Aufnahmen zeigten, dass es bei allen Zahnproben an den am Approximalbereich angrenzenden Kavitätenrändern zur Bildung typischer Sekundärkariesläsionen gekommen war. Fast in allen Proben war eine Randspaltbildung unterschiedlichen Ausmaßes nachzuweisen, wobei im Bereich der Kaufläche keine sekundärkariesähnlichen Läsionen festgestellt werden konnten.

In Zähnen der Gruppe F, die mit GIZ gefüllt waren, zeigten sich stärker ausgeprägte Randspalten als in Gruppen SB und PB, die mit Adhäsivsystemen behandelt wurden (Abb.: 5.1.4.1a).



Abbildung 5.1.4.1a / Randspalt bei GIZ-Füllung

Außerdem, trotz sorgfertiger Verarbeitung und Einhaltung der Herstellerangaben, wiesen GIZ-Füllungen hohe Porosität und Luftblasen auf (Abb. 5.1.4.1c).

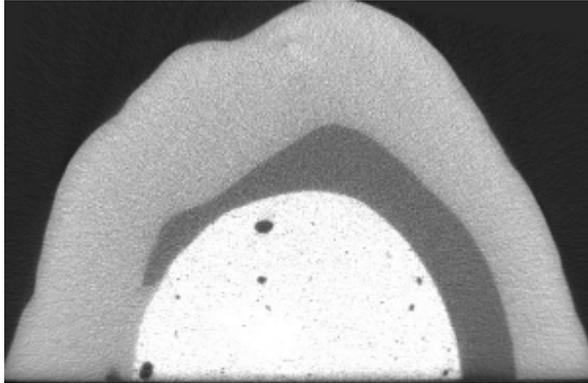


Abbildung 5.1.4.1c / Luftblasen in GIZ-Füllung

Wie bereits erwähnt, wies die Hälfte der Proben OB einen Füllungsverlust auf, bei diesen Proben war entlang des gesamten Kavitätenwandbereichs Sekundärkaries festzustellen (Abb.: 5.1.4.1d).

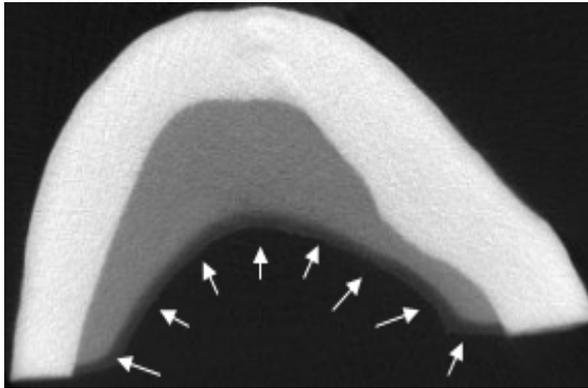


Abbildung 5.1.4.1d / Füllungsverlust und Sekundärkaries

#### 5.1.4.2. Artefakten

In verschiedenen Schichten der CT-Bilder konnten Artefakten unterschiedlicher Art beobachtet werden. Diese Fehler traten zufällig auf und verteilten sich unregelmäßig in den Gruppen (Abb. 5.1.4.2 a, b). Dennoch konnte festgestellt werden, dass meistens die ersten 50 - 100 und letzten 30 - 100 Schichten der  $\mu$ CT-

Bilder durch dieses Phänomen betroffen waren. Trotz Bemühungen konnte das Auftreten von Artefakten auch in nachfolgenden Untersuchungen nicht vermieden werden.

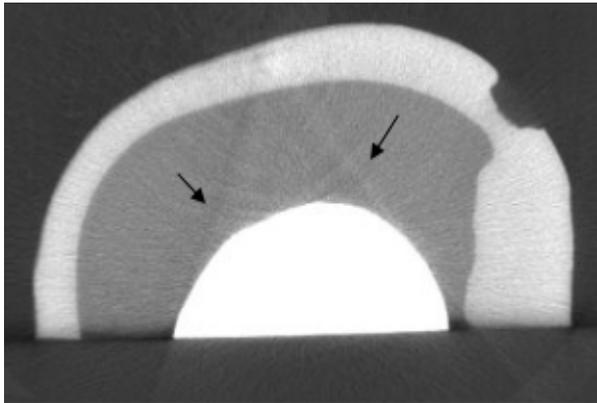


Abbildung 5.1.4.2a / Strahl-Artefakten.

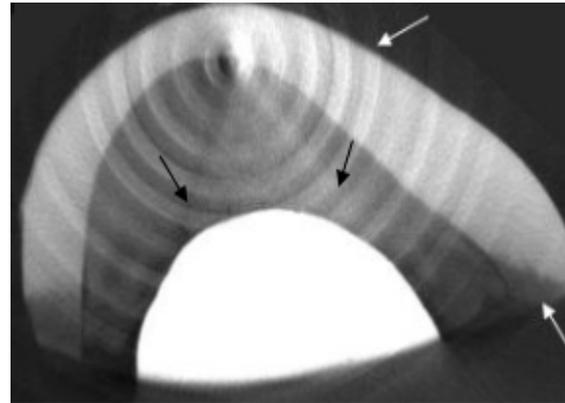


Abbildung 5.1.4.2b / Schatten-, Kreisförmige- und Strahl-Artefakten.

## 5.2 Untersuchungsabschnitt I: *Eignung des Mundsimulators zur Erzeugung sekundärkariesähnlicher Demineralisationen und Bestimmung optimaler Versuchsdauer*

Laut T-Test konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Karieszunahme (Lt und delta Z) zwischen den Messgruppen  $W^6$  und  $W^8$  ermittelt werden. Betrachtet man aber die Ergebnisse in der grafischen Darstellung (Abb. 5.2a und 5.2b), die auf den ermittelten Gesamtmittelwerten basieren (siehe Anhang / Tab. 10.1.a, b, c, d), kann man in den Gruppen  $W^8_1$ ,  $W^8_5$  und  $W^8_{10}$  im Vergleich zu den Gruppen  $W^6_1$ ,  $W^6_5$  und  $W^6_{10}$  eine Steigerung des Mineralverlustes beobachten. Auch Lt nahm in den Gruppen  $W^8_1$  und  $W^8_5$  im Vergleich zu  $W^6_1$  und  $W^6_5$  zu. Bei einer Entfernung von 120  $\mu\text{m}$  vom Füllungsrand ( $W^8_{15}$  und  $W^6_{15}$ ) ist ein Rückgang des Mineralverlusts in der Gruppe  $W^8_{15}$  im Vergleich zu der Gruppe  $W^6_{15}$  zu

beobachten. Bezüglich der Lt ist zu erkennen, dass bei der Entfernung von 40  $\mu\text{m}$  vom Füllungsrand ( $W_5^6$  und  $W_5^8$ ) fast keine Veränderung zu Gunsten der Zunahme der Lt in der Gruppe  $W_5^8$  zu sehen ist. Weiterhin nahm auch Lt in den Gruppen  $W_{10}^8$  und  $W_{15}^8$  im Vergleich zu  $W_{10}^6$  und  $W_{15}^6$  deutlich ab.

Außerdem, wie Abbildungen 5.2a und 5.2b zeigen, neigen die Proben nach 8-wöchiger Versuchsdauer im Vergleich zu Proben, die 6 Wochen lang in künstlicher Mundhöhle verblieben waren, zur Steigerung der Demineralisationen im Randspalt anliegenden Bereich.

Die Proben, die 6 Wochen lang in der künstlichen Mundhöhle verblieben waren, weisen eine kontinuierliche Zunahme an Lt und delta Z vom Füllungsrand ausgehend auf und erreichen höchste Werte 120  $\mu\text{m}$  vom Füllungsrand entfernt.

Nach 8-wöchigem Versuchsablauf verändert sich das Kariesbild vollständig: Die Lt und insbesondere der Mineralverlust im Bereich des Randspaltes sind am höchsten und beide Werte nehmen vom Füllungsrand ausgehend ab; dabei ist die Karies 120  $\mu\text{m}$  von Füllungsrand entfernt (Bereich der die Primärkaries repräsentiert) am wenigsten ausgeprägt.

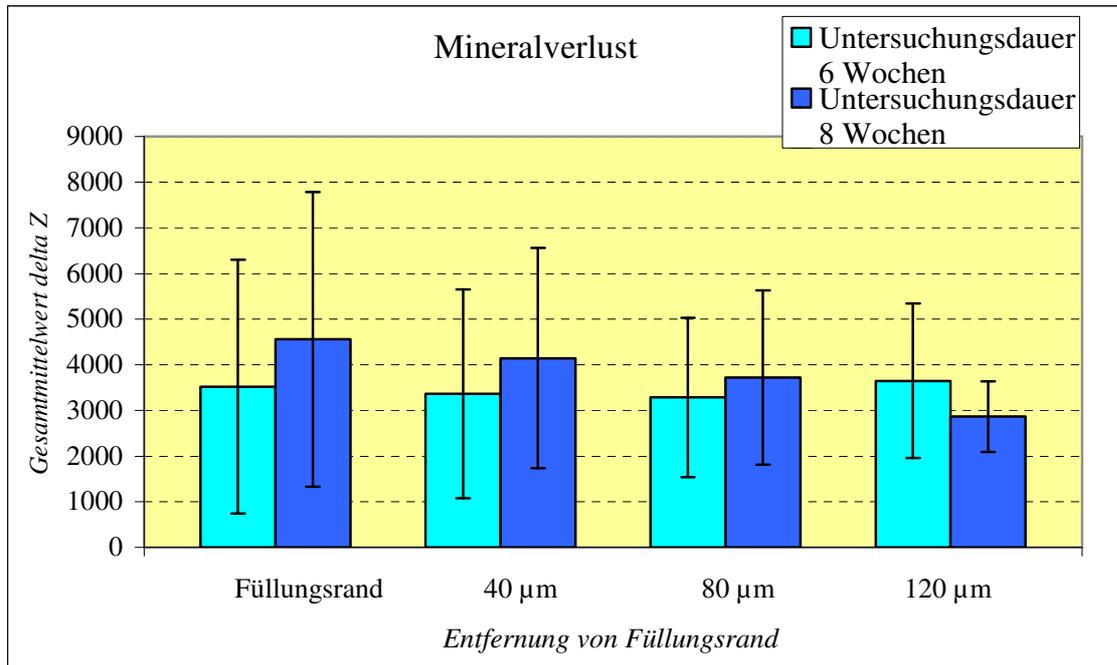


Abbildung 5.2a

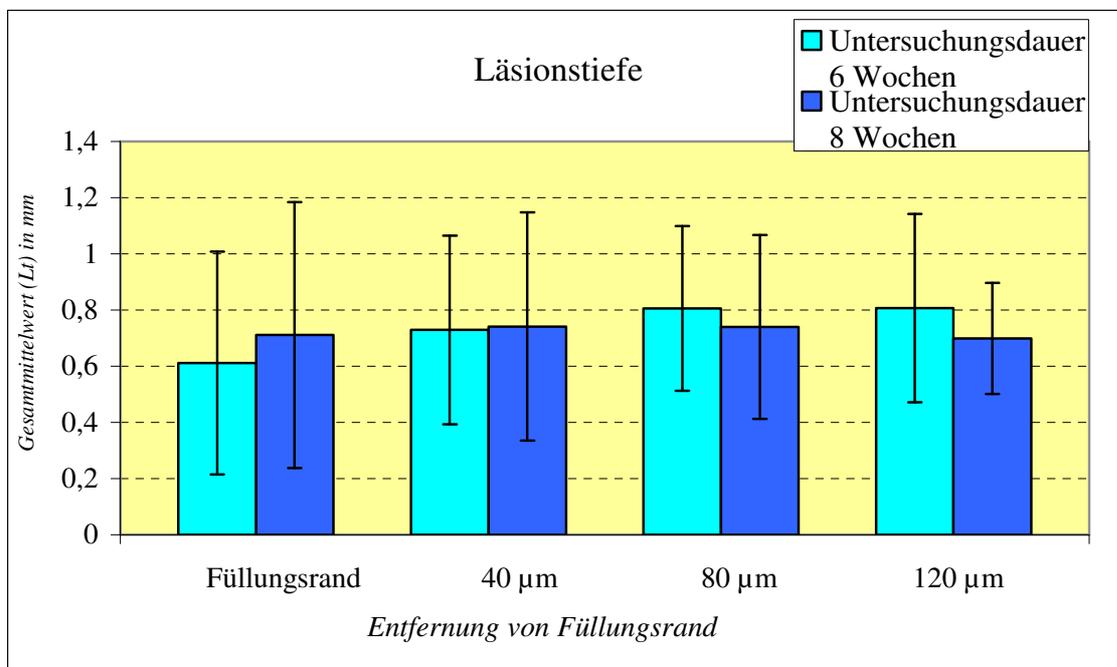


Abbildung 5.2b

### **5.3 Untersuchungsabschnitte II und III : Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundärkariösen Läsionen**

ONEWAY ANOVA Tests haben ergeben, dass zwischen den Gruppen F, PB, SB und OB signifikante Unterschiede bezüglich des Mineralverlustes ( $\Delta Z$ ) und der Läsionstiefe (Lt), unabhängig von der Entfernung der Messstelle vom Füllungsrand, überall gegeben waren.

Weiterhin erfolgte die Aufdeckung der homogenen Untergruppen mittels Tukey-B-Post-Hoc-Test. Dieser hat ergeben, dass die Gruppe F ( $F_1, F_5, F_{10}, F_{15}$ ) im Vergleich zu anderen Gruppen, unabhängig von der Entfernung der Messstelle vom Füllungsrand, den signifikant geringsten Mineralverlust und die niedrigste Läsionstiefe aufweist.

Weiterhin sind die Ergebnisse folgendermaßen verteilt (Abb. 5.3a und 5.3b):

Messungen direkt an Füllungsändern (Kavitätenwandläsion) zeigten, dass die Gruppe  $OB_1$  wie erwartet, den höchsten Mineralverlust ( $\Delta Z$ ) und die ausgeprägteste Läsionstiefe (Lt) besaß. Bezüglich der Läsionstiefe waren die Unterschiede zwischen den Gruppen  $PB_1$  mit Median 0,7106 mm Lt und  $SB_1$  mit Median 0,5588 mm Lt statistisch nicht signifikant und bilden eine homogene Untergruppe. Der Mineralverlust hingegen war bei der Gruppe  $PB_1$  signifikant niedriger als bei der  $SB_1$ .

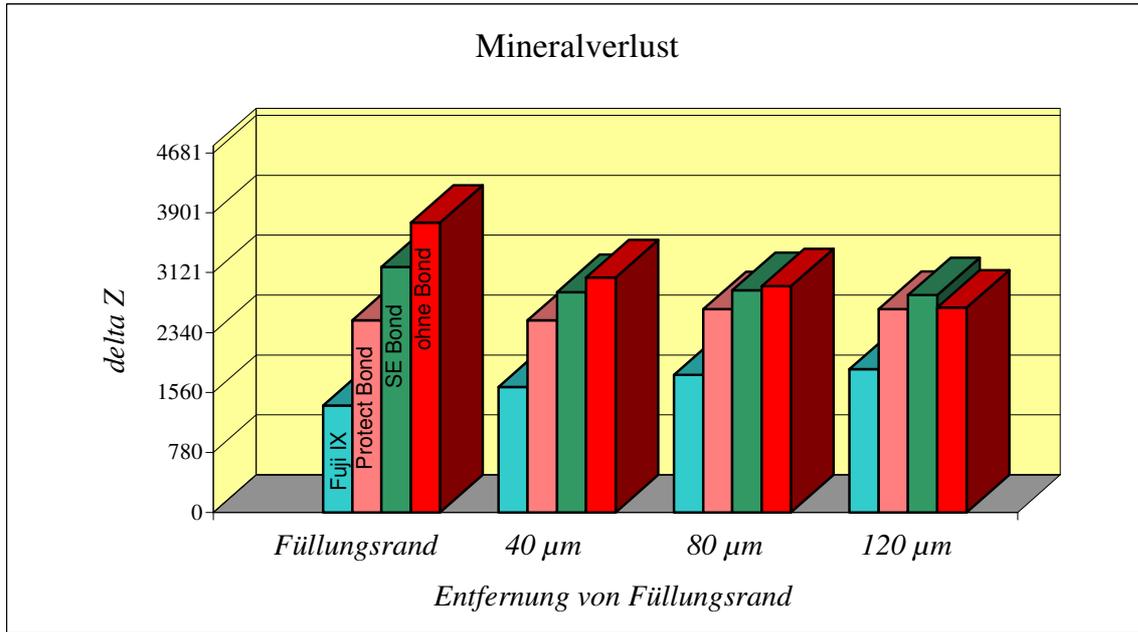


Abbildung: 5.3a

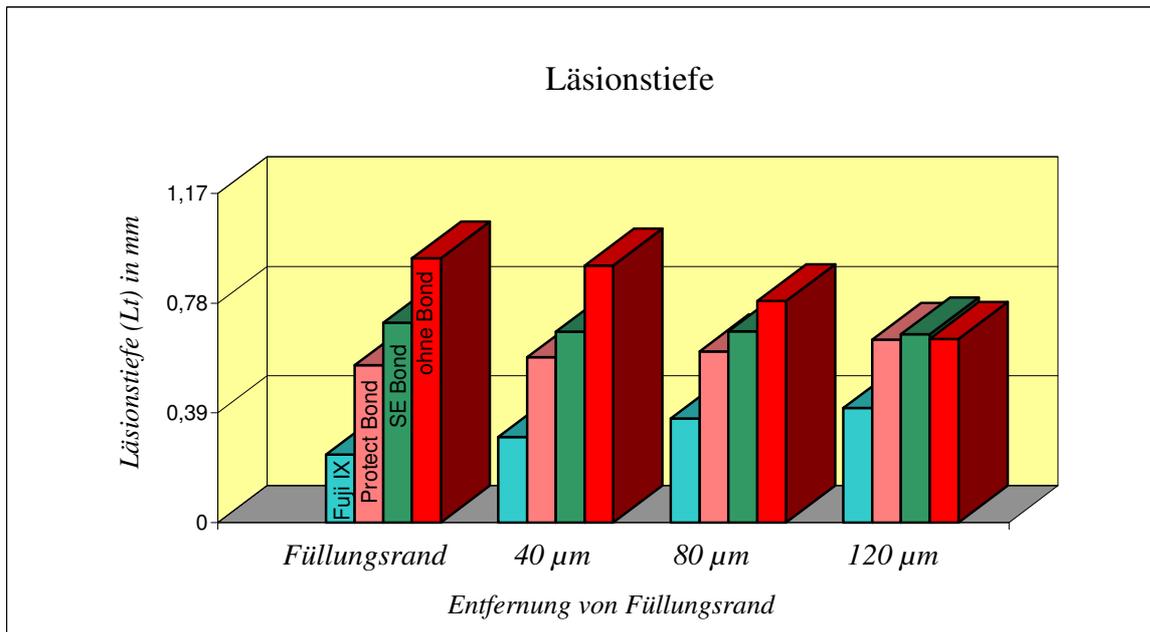


Abbildung: 5.3b

Bei einer Entfernung von 40  $\mu\text{m}$  von den Kavitätenrändern (Übergangszone zwischen Kavitätenwandläsion und Außenläsion) waren die Unterschiede bezüglich Lt und delta Z zwischen den Gruppen PB<sub>5</sub> und SB<sub>5</sub> und Gruppen OB<sub>5</sub> und SB<sub>5</sub> statistisch nicht signifikant, jedoch unterschied sich Gruppe PB<sub>5</sub> mit Median 2540,1175 delta Z und Median ,5875 Lt signifikant von Gruppe OB<sub>5</sub> mit Median 3058,2763 delta Z und ,9138 Lt.

Bezüglich des Mineralverlustes ließen sich an den Entfernungen von 80  $\mu\text{m}$  (Außenläsion) und 120  $\mu\text{m}$  (Primärkaries) zwischen den Gruppen PB<sub>10</sub>, SB<sub>10</sub> & OB<sub>10</sub> und PB<sub>15</sub>, SB<sub>15</sub> & OB<sub>15</sub> keine statistisch signifikanten Unterschiede nachweisen. Die Messwerte von der Lt waren bei einer Entfernung von 80  $\mu\text{m}$  zwischen den Gruppen PB<sub>10</sub> und SB<sub>10</sub> ebenso wie zwischen den Gruppen SB<sub>10</sub> und OB<sub>10</sub> statistisch nicht signifikant, dennoch unterschied sich Gruppe PB<sub>10</sub> auch hier signifikant von Gruppe OB<sub>10</sub>. Bei einer Entfernung von 120  $\mu\text{m}$  bildeten die Gruppen PB<sub>15</sub>, SB<sub>15</sub> und OB<sub>15</sub> auch hinsichtlich der Lt eine homogene Untergruppe.

Interessant ist auch zu erwähnen, dass, wenn man die in einzelnen Gruppen ermittelten Ergebnisse ins Visier nimmt und die Mittelwerte, die am Füllungsrand gemessen wurden, mit Werten, die vom Füllungsrand ausgehend bei 40  $\mu\text{m}$ , 80  $\mu\text{m}$  und 120  $\mu\text{m}$  Entfernung ermittelt wurden, miteinander vergleicht, deutlich wird, dass Karies sich in verschiedenen Gruppen unterschiedlich ausbreitet. In Tab.: 5.3c und 5.3d sind diese Werte zusammengestellt.

Tabelle 5.3c

Gruppe	N	delta Z / Entfernung vom Füllungsrand			
		Füllungsrand	40 µm	80 µm	120 µm
F	16	1389,2669	1634,5194	1792,1625	1863,7025
PB	16	2528,7438	2540,1175	2574,1969	2636,8500
SB	16	3193,5769	2965,3531	2841,4912	2656,7188
OB	16	3771,3850	3058,2763	2944,1375	2861,8244

Tabelle 5.3d

Gruppe	N	Lt (in mm) / Entfernung von Füllungsrand			
		Füllungsrand	40 µm	80 µm	120 µm
F	16	,2413	,3044	,3706	,4069
PB	16	,5588	,5875	,6087	,6500
SB	16	,7106	,6788	,6806	,6531
OB	16	,9394	,9138	,7869	,6694

Anhand der Diagramme Abbildung 5.3.1c und 5.3.1d wird übersichtlich, dass in den Gruppen OB und SB der Mineralverlust ebenso wie die Läsionstiefe vom Füllungsrand ausgehend kontinuierlich abnimmt, wohingegen bei den Gruppen PB und F die Läsionstiefe und der Mineralverlust vom Füllungsrand ausgehend zunehmen. Dabei nehmen die Mittelwerte von Lt und delta Z in Gruppe F wesentlich schneller zu, während in der Gruppe PB die Werte von Lt und delta Z sehr langsam an Höhe gewinnen und erst bei der Entfernung von 120 µm vom Füllungsrand fast das gleiche Niveau wie in den Gruppen SB und OB erreichen.

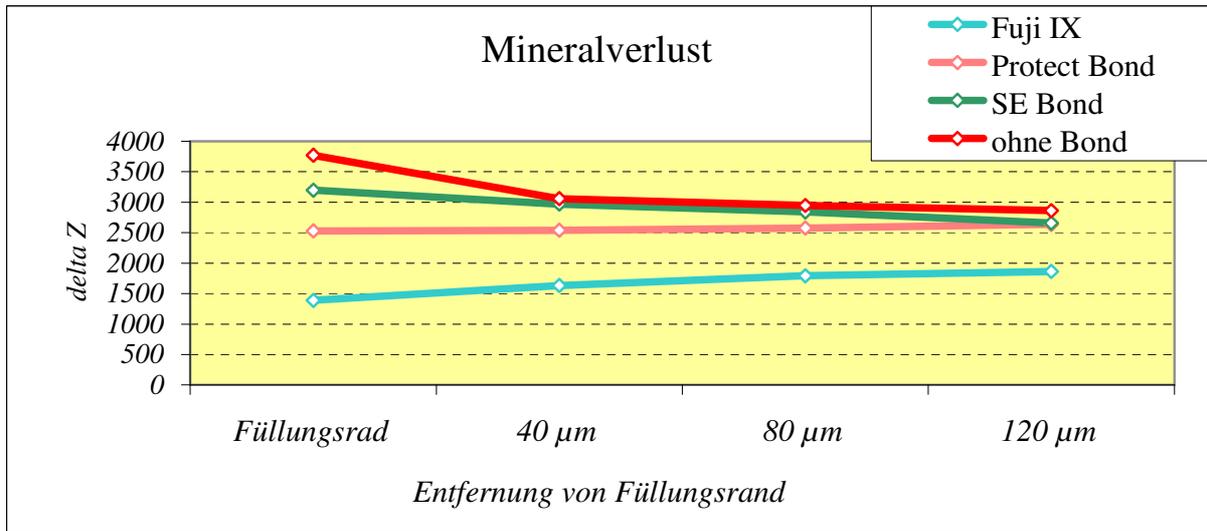


Abbildung: 5.3.1c

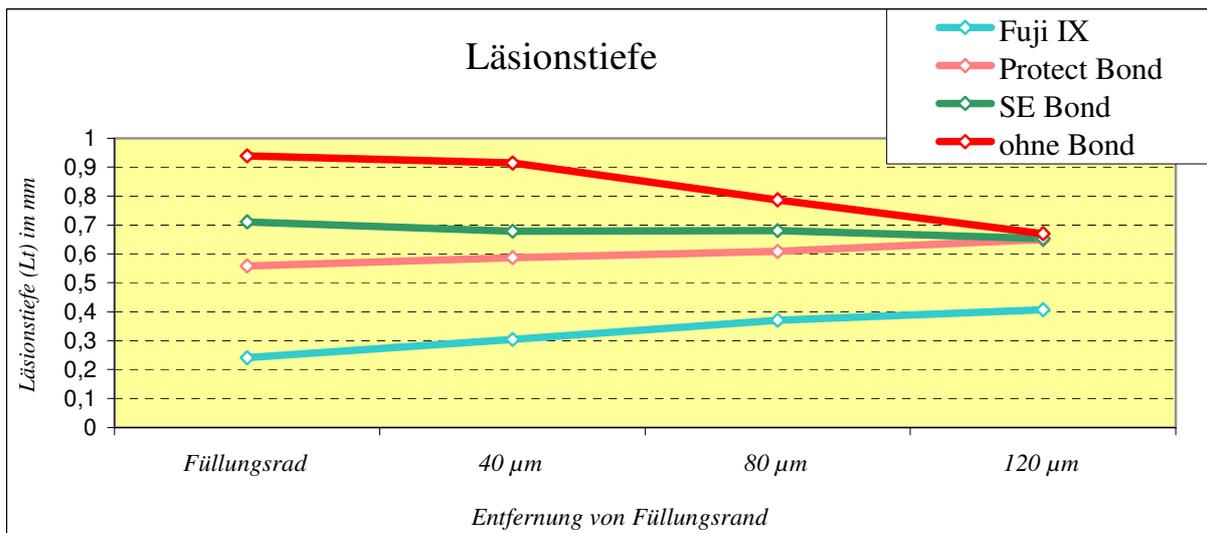


Abbildung: 5.3.1d

## 6. Diskussion

Die kurze Lebensdauer von bestehenden Füllungen bleibt immer noch das größte Problem in der Zahnmedizin, wobei die Sekundärkaries den größten Teil der zahnärztlichen Behandlungszeit in Anspruch nimmt (Kidd et al. 1992; Mjör et al. 1992; 2002; Manhart 2003) und enorme Kosten verursacht. Außerdem entsteht häufig die Situation, dass während der Präparation des Zahnes versehentlich infiziertes Gewebe belassen wird (Zavareh & Yazdizadeh 2008), was letztendlich zum Kariesrezidiv mit klinisch folgenschweren Resultaten führen kann (Terashima et al. 1969).

Im Rahmen einer langjährigen, präventiv bzw. interdisziplinär ausgerichteten Zahnmedizin arbeitet man an neuen, die traditionelle Kariestherapie ergänzenden und erweiternden Methoden, wobei die Aufmerksamkeit darauf gelenkt wird, möglichst Zahnhartsubstanz- und Pulpa schonend zu handeln (Staeble & Hickel (DGZ) 1998; Heidemann et al. (DGZ V1). Als viel versprechend werden die bioaktiven Adhäsive mit antibakteriellen Eigenschaften betrachtet, diese eliminieren einen Großteil der noch in der Kavität verbliebenen Keime und schützen zudem gegen die Invasion von außen angreifender Bakterien (Imazato 2001). Erste Forschungsergebnisse zeigen, dass antibakteriell wirkende Adhäsive das Auftreten von Karies bzw. Sekundärkaries reduzieren und die Lebensdauer der Füllung erhöhen können (Kaneko et al. 2001; Imazato et al. 2002; 2004; Kuramoto et al. 2005; Türkün 2004; Türkün 2005; Pinto et al. 2009). Jedoch existieren weder umfassende Langzeit- noch Vergleichs-Studien zur abschließenden Beurteilung dieser neuen Materialien.

Heutzutage ist neben den Maßnahmen wie Plaque-Kontrolle und Fluoridierung die mehr oder weniger bewährte Methode der Kariesprävention der Einsatz von Fluoridfreisetzenden Füllungsmaterialien wie z.B. GIZ (Strübig 1988; Forss & Seppä 1990; Benelli et al. 1993; Forsten 1994).

Daher wurde in der vorliegenden Arbeit die kariesprotektive Wirkung eines kommerziell erhältlichen Bondingsystems (Clearfil™ Protect™ Bond (Kurarey Medical Inc., Okayama, Japan), das ein antibakterielles Monomer MDPB enthält und Fluorid freisetzt, in einer künstlichen Mundhöhle untersucht und unter dem speziellen Gesichtspunkt der Sekundärkarieshemmung mit Eigenschaften vom Glasionomerezement (Fuji IX (“GC” Europe, Leuven, Belgien) verglichen.

## **6.1 Diskussion Material und Methoden**

### 6.1.1 Übertragbarkeit von der gewählten In-vitro-Versuchsanordnungs- auf In-vivo-Bedingungen

Klinische Studien bieten verlässliche Ergebnisse und haben hohe Aussagekraft. Dennoch zieht sich der Weg zu brauchbaren Daten bei derartigen Untersuchungen über eine lange Zeitspanne, außerdem sind die Experimente von der Compliance der Patienten abhängig und unterliegen den Einflüssen von individuellen Gewohnheiten der Testpersonen, daher ist die Standardisierbarkeit der Testbedingungen problembehaftet. Weiterhin müssen ethische und finanzielle Aspekte mitberücksichtigt werden. Demgegenüber bieten Labortests die Möglichkeit für alle zu untersuchenden Materialien gleiche experimentelle

Bedingungen zu schaffen und erlauben die Verwendung von exakter Messmethodik (Krejci et al. 1990; Perdigao & Lopes 1999; Roulet 1994a; Gaengler et al. 2001) wie z.B.  $\mu$ CT, die mit höherer Ortsauflösung arbeitet. Für derartige In-vivo-Tests mussten die Zähne extrahiert werden.

Die Aussagekraft von In-vitro-Untersuchungen hängt maßgeblich davon ab, wie realistisch genau die verschiedenen Funktionen der Mundhöhle simuliert werden (Krejci et al. 1990).

In diesen In-vitro-Untersuchungen wurden zu Experimentierzwecken ausschließlich nur menschliche Zähne verwendet. Für die Erzeugung artifizieller Karies wurde *S.mutans* verwendet, dieser Stamm kann große Mengen von Milchsäure produzieren und wird als Hauptverursacher von Karieserkrankung beim Menschen angesehen (Berkowitz 2003; Loesche et al. 1984; 1986;) und bereits in mehreren Studien zur Karieserzeugung eingesetzt (Orland et al. 1954; 1955; Schiffner 1997; De Carvalho et al. 2009). Um eine artifizielle Plaque zu züchten, wurde auf den Testzähnen eine Pellikel von menschlichem Speichel gebildet. Dadurch wurden die bakteriellen Anheftungsvorgänge in vivo (siehe Abschnitt 2.2.2) experimentell nachgeahmt. Hinsichtlich der Fragestellungen in dieser Studie sollte auch auf weitere mögliche Einflüsse der Pellikel eingegangen werden: Die Pellikel kann nämlich in Abhängigkeit vom Lipidanteil als Diffusionsbarriere für verschiedene Ionen und Säuren dienen (Hannig 1994). Auch die Fluoridabgabe aus den Glasionomern wird durch die Pellikelschicht reduziert (Damen et al. 1996). Diese Aspekte konnten in dieser Studie mitberücksichtigt werden. Für die Simulation von Demineralisationsphasen wurde, analog der Studie von Schiffner (1997), auf die Proben täglich 8-mal jeweils für eine Stunde Saccharoselösung

gegeben. Bezüglich der Häufigkeit an Zuckerangeboten bezieht sich Schiffner (1997) in seiner Arbeit auf die anderen In-vivo-Studien und meint, dass Frequenzen von 8 Perioden pro Tag im Vergleich zur intraoralen Situation nicht unrealistisch seien. Es sind also in dieser Versuchsanordnung alle vier ätiologischen Hauptfaktoren der Karies (Wirt, Substrat, Mikroorganismen, Zeit) präsent. Dabei wurden klinische Aspekte wie die Mundhöhlentemperatur, orale Clearance- und remineralisierenden Funktionen des Speichels in die Untersuchungen miteinbezogen.

Dennoch konnten die Mundhöhlenbedingungen nicht vollständig simuliert werden. Es war nicht möglich, den Zähnen natürlichen Speichel zuzufügen, da die benötigte Speichelmenge zu groß gewesen wäre. Daher wurde als remineralisierende Lösung ein künstlicher Speichel in seiner natürlichen Zusammensetzung wie von Matzker und Schreiber (1972) angegeben und von Schiffner (1997) modifiziert, angewendet. Dabei bleibt die Auswirkung von Speichelproteinen im Re- / Demineralisationsprozess unberücksichtigt.

Der für diese Studie gewählte Speichel-pH-Wert von 6,9, entspricht dem durchschnittlichen pH-Wert des Ruhespeichels. Es konnte also lediglich nur die orale Ruhesituation simuliert werden. Die natürlichen Anstiege des pH-Wertes beim stimulierten Speichel in vivo (Jenkins 1978) konnten aus technischen Gründen nicht berücksichtigt werden.

Betrachtet man den Versuchsaufbau der vorliegenden Studie, so konnte durch Verwendung von vorgewärmten Spüllösungen auf der Zahnoberfläche die konstante Temperatur von 37 °C garantiert werden. Dabei bleiben die Temperatur-

schwankungen in der Mundhöhle, die mit der Aufnahme von kalten bzw. heißen Speisen und Getränken verbunden sind, unberücksichtigt. Auch die tägliche Mundhygiene wurde in die Untersuchung nicht miteinbezogen. So wurden für das Plaquewachstum ideale Bedingungen geschaffen. Aus diesen Gründen kann die Demineralisation in dieser Versuchsanordnung begünstigt worden sein.

Andererseits aber sind Faktoren der Remineralisationsprozesse hervorzuheben, z.B. die gewählte Speicheldurchflussgeschwindigkeit von 0,16 ml/min (entspricht ca. 10 ml/h) beim Tagesrhythmus und 83,3  $\mu$ l/min (entspricht ca. 5 ml/h) beim Nachtrhythmus je Zahn mag recht hoch erscheinen. Vom technischen Standpunkt her wäre es zwar mit der verwendeten Apparatur möglich gewesen, kleinere, für die intraorale Situation realistischere Mengen von Lösungen auf die Proben zu pumpen (siehe Abschnitt 6.1.1.2), aber für die Fragestellung in unserer Studie bezüglich der Freisetzung von MDPB hatte die vermehrte Spülwirkung von Lösungen große Bedeutung: Diese sollte ein schnelles Abtransportieren von den aus den Restaurationsmaterialien diffundierten Bestandteilen bewirken. Daher war die Annäherung an die intraorale Situation nicht gewollt und es wurde entschieden, bei den von Schiffner (1997) vorgeschlagenen Fließmengen von 10 ml/h (80 ml/h für je künstliche Mundhöhle) für den Tagesrhythmus und 5 ml/h (40 ml/h für je künstliche Mundhöhle) für den Nachtrhythmus zu verbleiben. Nach Angaben des oben genannten Autors liegen diese Fließmengen, wenn man diese für die gesamte künstliche Mundhöhle anrechnet und mit Mundhöhlenbedingungen vergleicht, dennoch im oberen Bereich der in vivo festgestellten Fließmengen. Außerdem stellt das Ausbleiben von Bakterien- und Zuckerezufuhr an Wochenenden eine starke Abweichung von der intraoralen Situation dar. Aus technischen - ebenso wie aus Koordinationsgründen - konnte dieses Problem nicht umgangen werden. Daher

wird die Remineralisation in dieser Versuchsanordnung im Vergleich zur oralen Situation zu hoch dargestellt sein.

Weiterhin soll auf den Aspekt eingegangen werden, dass Demineralisationen in dieser Untersuchung nur durch monokulturelle streptokokkale Plaque erzeugt wurde. Dies stellt eine starke Vereinfachung der komplexen Mundmikroflora dar. Dementsprechend bleiben die gegenseitigen Einflüsse von verschiedenen Bakterienarten, die in der komplexen ausgewogenen Mischmikroflora in vivo stattfinden, in diesem experimentellen Demineralisationsprozess unberücksichtigt.

Wegen der erwähnten Abweichungen von der intraoralen Situation können in dieser Studie ermittelte Ergebnisse nur bedingt Aufschluss über das Kariesgeschehen in vivo geben. Außerdem erstreckt sich die Untersuchungsdauer für jeden Untersuchungsabschnitt über einen Zeitraum von 12 Wochen, davon wurden 8 Wochen lang (je Untersuchungsabschnitt) Karies fördernde Bedingungen simuliert. Daher können weiterreichende Aussagen über die tatsächliche Wirksamkeit getesteter Restaurationmaterialien nur in weiterführenden klinischen Langzeitstudien belegt werden.

Dennoch kann von repräsentativen Ergebnissen ausgegangen werden, da die experimentellen Bedingungen gleichermaßen für alle untersuchten Materialien gelten. So scheinen im Rahmen dieser In-vitro-Studie doch vergleichende Rückschlüsse auf das klinische Verhalten von unterschiedlichen Restaurationmaterialien gezogen werden zu können.

### *6.1.1.2 Die verwendete künstliche Mundhöhle*

Es existieren viele verschiedene In-vitro-Modellformen für die Untersuchungszwecke im Labor. Künstliche Mundhöhlen spielen eine besondere Rolle in der zahnmedizinischen Forschung, weil sich mit diesen die oralen Bedingungen besonders praxisnah simulieren lassen. Künstliche Mundhöhlen werden bereits seit Jahrzehnten eingesetzt, um unterschiedliche Fragestellungen, z.B. bezüglich der Probleme in der Kariologie, den Prophylaxestrategien oder dentalen Materialien (Tang et al. 2003), auf experimenteller Ebene zu überprüfen.

Bei der in diese Studie verwendeten Apparatur handelt es sich um eine künstliche Mundhöhle, die bis zu 8 Probekörper aufnehmen kann. Dabei sind die Zähne analog der intraoralen Situation für Spüllösungen freizugänglich.

Das Herzstück dieser Apparatur stellen verwendete Schlauchpumpen (MPC Standart, ISMATEC GmbH, Wertheim-Mondfeld, Deutschland) dar, in die sehr kurze, im Sekundenbereich ( $\text{Min. } 0.1 \text{ s}$ ) liegende oder auch bis zu 999 Stunden lange De- und/oder Remineralisationsphasen einprogrammiert werden können, dabei erlauben diese Pumpen das repetitive Dosieren nach Zeit oder Volumen mit vorgegebener Pausenzeit. Da Pausenzeit ( $0.1 \text{ s} - 999 \text{ h}$ ) und Dosierzeit ( $0.1 \text{ s} - 999 \text{ h}$ ) separat eingegeben werden, können diese gleich lang oder abweichend voneinander einprogrammiert werden, so dass sich der Einsatz von Zeitschaltuhren bei Projekten wie diesen, die mit mehrmaliger Abwechslung der Durchlaufzyklen durchgeführt werden, erübrigt. Auch die Volumen können je nach Fragestellung und Bedarf sehr klein  $1 \mu\text{l}/\text{min}$  bzw. sehr hoch bis  $3,7 \text{ l}/\text{min}$  eingestellt werden. Allerdings kann das Ersetzen von Schläuchen und /oder

Pumpenköpfen durch für benötigte Fließraten geeignete Bestandteile nötig sein. Dies ist jederzeit problemlos möglich, wobei nur ein Bedarf von überschaubar kleinen Investitionen entsteht. Es ist also möglich, nach einmaligem Programmieren die Reihenfolge und Dauer der Zyklen festzulegen, innerhalb derer die gewünschten Mengen an Spüllösungen in beliebig unterschiedlichen und variierbaren Durchläufen auch mehrere Male hintereinander die Probekörper umgeben.

Weiterhin bedeutsam ist, dass diese Pumpen 4 unterschiedliche, beliebig eingestellte (z.B. bezüglich Volumen, Zeitintervalle oder Pausenzeiten) Programme speichern können. Diese besondere Eigenschaft erweist sich als sehr wertvoll, da in Untersuchungsanordnungen wie diesen, wo Bedarf an rascher Umstellung zwischen den Betropfungsarten (Nachtrhythmus / Tagrhythmus in Kap. 4.4) besteht, der tägliche Zeitaufwand, der wiederum mit Unterbrechungen zwischen den Zyklen und der Gefährdung des Untersuchungsablaufes verbunden wäre, bis auf wenige Sekunden reduziert wird.

Ein weiterer Vorteil von MPC Standard Pumpen der Firma ISMATEC ist eine detaillierte Originalbedienungsanleitung und leichte Handhabbarkeit, wodurch jedes gewünschte Modul unkompliziert zu steuern ist.

Für die Gestaltung des optimalen Lebensraums für Streptokokken sollte eine anaerobe Umgebung geschaffen werden. Durch den Einsatz des „BD GasPak 100-Systems“ (BD Diagnostic Systems; Heidelberg, Deutschland) ist das Aufstellen dieser künstlichen Mundhöhle auch in Räumen ohne CO<sub>2</sub>-Gasleitungsanschluss möglich. Außerdem wird eine Unfallsituation dadurch auf null reduziert. Der

untere Teil des verwendeten Exikkatorgefäßes kann bis zu ca. 800 ml Flüssigkeit aufnehmen. Es war notwendig, das Gefäß 2-mal pro Tag durch die Abflussöffnung zu leeren - wobei im Reaktionsgefäß das anaerobe Milieu auch weiterhin bestand.

Die Sterilisierbarkeit der Apparatur hatte in dieser Versuchsanordnung eine entscheidende Bedeutung, denn eine Verunreinigung der verwendeten *S. mutans* Kultur durch andere Sporen sollte verhindert werden. Das ausgesuchte Exsikkatorgefäß (Rotilabo-Exikkator Nr.:1008.1, Fa. Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland) ist nach Herstellerangaben nicht sterilisierbar. Die Verwendung von Spezialanfertigungsteilen hätte eine erhebliche Aufwands- und Kostensteigerung verursacht, die den möglichen Rahmen gesprengt hätte. Ein Kunststoffexikkator ließ sich leicht modifizieren (Siehe Abschnitt 4.2.1). Außerdem war dieses Modell ziemlich preisgünstig, so dass die Möglichkeit bestand, nach Bedarf auch weitere Exemplare zu bestellen und unvorhersehbare Versäumnisse bei der Funktionalitätsplanung, die möglicherweise erst in Vorversuchen aufgetreten wären, zu vermeiden, was bei Spezialanfertigungsprodukten ziemlich kompliziert und kostenaufwändig sein dürfte. Daher wurde obengenannter Exikkator entgegen der Herstellerangaben eine Stunde lang bei 120 °C Heißluft sterilisiert. Nach dem Sterilverfahren wies der durchsichtige Kunststoffdeckel makroskopisch sichtbare kleine Risse im Material auf, dennoch blieb das Gefäß auch nach mehrmaliger Sterilisation immer noch dicht und robust. Auch bezüglich der Durchsichtigkeit gab es keinen bedeutenden Mangel, so dass diese kleinen Risse nur von ästhetischer Natur waren und keinen negativen Einfluss auf die Untersuchungsanordnung hatten.

Bei der Konzeption der künstlichen Mundhöhle konnten durch Einsatz von Heizplatte und Brutschrank die verwendeten Spüllösungen und Versuchsbehälter gleichermaßen temperiert werden. Auf Materialprüfungsversuche dürfte der Ablauf bei konstanten 37 °C (statt Raumtemperatur) in erster Linie einen Effekt durch Begünstigung der Diffusions- und Reaktionsgeschwindigkeiten und der erhöhten Freisetzung von Löslichkeitsprodukten aus den verwendeten Restaurationsmaterialien (wie z.B. Fluorid) haben.

Die Entwicklung und der Bau einer funktionierenden künstlichen Mundhöhle, die alle wichtigen Faktoren der Kariesentstehung simuliert (siehe Abschnitt 6.1.1) bei gleichzeitiger bedienerfreundlicher Anordnung der Bauelemente, wurde erfolgreich realisiert. Diese Apparatur lässt sich nach kurzer Einweisung von einem größeren Personenkreis leicht bedienen. Dabei wurde streng darauf geachtet, relativ preiswerte handelsübliche Materialien zu verwenden. Damit unterscheidet sich diese künstliche Mundhöhle von anderen Apparaturen, wo teure Spezialanfertigungsteile verwendet werden (Schiffner 1997). Außerdem sind die Einzelteile miteinander nicht kompliziert oder unwiderruflich fest verbunden. Dies macht es möglich, die Reparaturen oder den Austausch von Bestandteilen unkompliziert und preisgünstig zu gestalten. Zudem können die einzelnen Bestandteile dieser künstlichen Mundhöhle, wie Brutschrank, Pumpen, Heizplatte, Exsikkator, jederzeit wieder problemlos abmontiert und ihrem ursprünglichen Verwendungszweck zugeführt werden. Auf diese Weise kann wirtschaftlich gearbeitet und je nach Bedarf im Labor die vorhandenen Geräte auch für zahlreiche andere Experimente verwendet werden. Darüber hinaus ist die Bauausführung sehr platzsparend, was ein Aufstellen auf kleinen Flächen ebenso wie ein unkompliziertes Verstauen ermöglicht.

Doch der größte Vorteil dieser Apparatur besteht darin, dass diese Apparatur dank ihrer Flexibilität umfangreiche Erweiterungs- und Modifizierungsmöglichkeiten anbietet, so bietet z.B. der verwendete Brutschrank genügend Platz dafür, das Reaktionsgefäß gegen höhervolumige auszutauschen. Auch die Schläuche können bis auf 24 Stück ergänzt werden, so dass es ohne weiteres möglich ist, mit kleinen Investitionen diese künstliche Mundhöhle auch für größere Projekte einzusetzen. Weiterhin es ist möglich, dieses Gerät als „PH-cycling“ (Ten Cate & Simons 1989) System anzuwenden und bei Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses des pH-Kurvenverlaufes auf die Zahnhartsubstanz mit variabel (zwischen 1 µl/min - 3,7 l/min) festgelegten Mengen an Spüllösungen und beliebig hoher Zyklenzahl zu arbeiten, wobei das Betropfen von Probekörpern mit zwei verschiedenen Lösungen gleichzeitig oder alternierend erfolgen kann. Währenddessen kann der Thermoschrank zu Bebrütungszwecken benutzt werden. Bei der Verwendung von Säurelösungen wie z.B. Milchsäure oder Essigsäure (Dung et al. 1995; Featherstone & Rodgers 1981) zu Untersuchungszwecken kann auf die säurebeständigen Kunststoffschläuche, die von Firma ISMATEC angeboten werden, zurückgegriffen werden. Dadurch kann die Beeinflussung der Ergebnisse durch aus den Flüssigkeit führenden Kunststoffschläuchen gelösten chemischen Stoffen ausgeschlossen und das Auslaufen der Flüssigkeiten verhindert werden. Also kann dieses Gerät auch für weitere Studien zu Zwecken des Testens von Füllungswerkstoffen oder Prophylaxelösungen ebenso wie für die Durchführung von Studien mit unterschiedlichen Fragestellungen zu kariologischen Problemen eingesetzt werden.

Die Nachteile der vorliegenden Apparatur bestehen in dem hohen Arbeitsaufwand, der mit dem Aufbau des Systems verbunden ist. Nur durch eine ausführliche Instruktion kann ein störungsfreier Ablauf garantiert werden. Weiterhin war die Handhabung des Systems schwierig, Trotz präziser Ausmessung bei den Modifikationsarbeiten am Exsikkator und exakt gelegter Bohrungen für Probekörper und Flüssigkeit führenden Schläuchen war es ziemlich kompliziert und zeitaufwändig, die Deckel so zu positionieren, dass alle Proben gleichzeitig betropft werden konnten. Ein weiteres Problem birgt die Tatsache, dass es auch bei bestehendem Bedarf nicht möglich ist, MPC Standard Pumpen der Firma ISMA-TEC an Zeitschaltuhren anzuschließen, denn bei der Unterbrechung des Stromflusses werden die eingegebenen Programme nicht automatisch, sondern nur nach manueller Betätigung des Einschaltknopfes weiterlaufen, sodass in der Untersuchungsanordnung eine Betreuung für das Umschalten von unterschiedlichen Programmen in den benötigten Zeitabschnitten mit eingeplant werden sollte. Weiterhin muss bezüglich der Sterilisationsfragen berücksichtigt werden, dass der Brutschrank, der für diese Versuchsanordnung verwendet wurde, nur durch Flächendesinfektionsmittel (hier wurde Aseptisol, Bode Chemie GmbH verwendet) gereinigt und nicht sterilisiert werden kann. Daher muss mit äußerster Vorsicht und Konzentration gearbeitet werden, um die Kontamination des Gerätes durch Bakterienstämme zu vermeiden. In diesem Zusammenhang muss erwähnt werden, dass es bei dem ersten Vorversuch zu einer Verunreinigung des Reaktionsgefäßes und der Probekörper, vermutlich durch schimmelartigen Pilz, gekommen ist. Die Ursache der Verunreinigung konnte jedoch nicht festgestellt werden, denn die erwähnte Verunreinigung deutet nicht auf Mängel bei der verwendeten Versuchsanordnung hin, da die nachfolgenden Vor- und Hauptversuche in dieser Hinsicht reibungslos durchgeführt werden konnten. Allerdings muss erwähnt

werden, dass es in diesem ersten Vorversuch mehrmals auch zum Aussterben der Bakterienkulturen während der Vorkultivation auf den Agar-Platten kam, so dass die Verunreinigung der Probekörper auch durch einen verunreinigten Bakterienstamm erfolgt sein könnte. Weiterhin lässt sich spekulieren, ob es trotz Sterilhaltung aller Arbeitsschritte zu einer Verunreinigung der Instrumente durch Schimmelpilzsporen gekommen sein könnte. Die erwähnten Vorversuche dienten dazu, sich mit den Arbeitsgäreten vertraut zu machen. Außerdem dienten sie der Erprobung des ausgewählten Bakterienstamms. Diese Vorversuche wurden in diese Arbeit nicht erwähnt, da die gewonnenen Erkenntnisse für die späteren Auswertungen ohne Belang waren.

#### *6.1.1.3 SYTO 9 / Propidiumiodid-Färbung*

Das „LIVE/DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit“ von der Molecular Probes (Eugene, USA) enthält neben dem rot fluoreszierenden DNA-bindenden Farbstoff Propidiumiodid (Ex bis 490 nm, Em bis 635 nm) auch den grün fluoreszierenden DNA-bindenden Farbstoff SYTO 9 (Ex bis 480 nm, Em bis 500 nm), der durch Cytoplasmamembranen sowohl intakter als auch geschädigter Bakterienzellen fundiert. Propidiumiodid kann jedoch nur durch eine defekte Cytoplasmamembran in die Bakterienzelle eindringen. Der Test basiert auf der Membrangängigkeit beider Farbstoffe. Die Doppelfärbung mit einer Mischung aus SYTO 9 und Propidiumiodid ergibt, dass die intakten Zellen grün bzw. die „toten“ Bakterien rot fluoreszieren. So wird die Beurteilung des physiologischen Zustands der in der Plaque vorhandenen Bakterien ermöglicht.

Die Färbung mit „LIVE / DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit“ wird häufig angewendet und ist in der Literatur als sichere Differenzierungsmöglichkeit zwischen lebenden und toten Zellen anerkannt (Sarah et al. 2006). Auch in dieser Untersuchung konnte durch Doppelfärbung mittels „LIVE / DEAD BacLight™ Bacterial Viability Kit“ bestimmt werden, ob durch die gewählte Versuchsanordnung während der gesamten Versuchsdauer ein überwiegend stoffwechselaktiver artifizieller Zahnbelag auf den Zähnen vorhanden war.

#### 6.1.2 Auswahl der Testzähne

Das Probenmaterial muss durch eine möglichst gleiche Beschaffenheit gekennzeichnet sein. Als Probenkörper dienten daher kariesfreie menschliche Molaren. Kariesfreiheit der Zähne wurde durch gründliche Observation kontrolliert.

Nach der Extraktion bis zur Herstellung der Proben waren die Zähne aus Desinfektionsgründen in Natriumazid versetzter Ringerlösung (0,8 %ig) gelagert. Die physiologische Lösungen werden in diversen Studien als Lagerungsmedium verwendet (Mehl et al. 1997; Kunzelmann et al. 1993; Manhart et al. 2001), denn diese beeinträchtigen die Eigenschaften von Zähnen als Testmaterial nicht (Haller et al. 1993). Auch Natriumazid als Konservierungsmittel wird in diesem Zusammenhang häufig eingesetzt (Tagami et al. 1990; Manhart et al. 2000). Es wurden nur die Zähne verwendet, die nicht länger als 6 Monate extrahiert waren, so dass eine nach ISO (1991) propagierte Lagerungszeit nicht überschritten wurde, daher ist davon auszugehen, dass degenerative Prozesse in der Zahnhartsubstanz die Untersuchungsergebnisse nicht beeinflussten.

Weiterhin wurden als Lagerungsmedium sterile künstliche Speichel verwendet, um intraoralen Bedingungen nahe zu kommen.

Da das Alter der Zähne nicht bekannt war, sollten altersbedingte Unterschiede in Kauf genommen werden. Das Alter der Zähne kann bei derartigen Studien eine große Rolle spielen, denn junges Dentin weist höhere Haftfestigkeit an der Zahnhartsubstanz auf als sklerotisches Dentin von älteren Patienten (Sidhu et al. 1991), dennoch wurde von Mixson et al. (1993) gezeigt, dass zwischen dem Alter der Zähne und der Randqualität im Dentinbereich kein Zusammenhang besteht.

Außerdem kann von einer randomisierten Aufteilung der Testzähne in den unterschiedlichen Gruppen ausgegangen werden.

Weiterhin könnten individuelle Eigenschaften der Zahnhartsubstanz einen Einfluss auf die Karieserzeugung haben. Doch die Ergebnisse unserer Untersuchungen haben bestätigt, dass durch die Verwendung dieser Versuchsanordnung in unterschiedlichen Gruppen reproduzierbare primärkariöse Läsionen entstanden sind (siehe Abschnitt 6.2.2.2), so dass von einer Gleichbeschaffenheit der Testzähne ausgegangen werden kann.

### 6.1.3 Auswahl von Referenzprodukten

#### *6.1.3.1 Glasionomerzement*

Glasionomerzemente (GIZ) zeichnen sich durch höhere und lang anhaltende Fluoridfreisetzung aus (Strübig 1988; Forsten 1990; 1991; 1994). Langzeitstudien haben gezeigt, dass das Kariesrisiko am Kavitätenrand einer Glasionomerzementfüllung minimiert ist (Benelli et al. 1993; Hatibovic-Kofmann & Koch 1991).

Wegen diesen Eigenschaften sollte als Vergleichsmaterial ein GIZ verwendet werden, um zu testen, ob durch den Einsatz von Clearfil™ Protect™ Bond gleichstarke Karies inhibierende Wirkung hervorgeht.

Da die hochviskösen Glasionomerzemente (HGIZ) im Vergleich zu allen anderen GIZ-Sparten am ehesten amalgamähnliches Verhalten aufweisen und sich durch einfaches Handling kennzeichnen (GC EUROPE 1999), fiel die Wahl auf den handelsüblichen stopfbaren HGIZ Fuji IX der Firma “GC” (Europe, Leuven, Belgien).

#### *6.1.3.2 Adhäsive*

Sowohl das getestete Adhäsiv Clearfil™ Protect™ Bond als auch das Referenzprodukt Clearfil™ SE Bond stammen vom selben Hersteller (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan). Clearfil™ SE Bond zeichnet sich durch gute Verbundfestigkeit an der Zahnhartsubstanz aus (Fritz et al. 2001; Ibarra et al. 2007; Jaber et al. 2008) und wurde bereits in mehreren Studien als

Referenzprodukt eingesetzt (Itota et al. 2005; Demirci et al. 2008; Gurpinar et al. 2006).

Imazato et al. (1998b) diskutierten, dass die antibakterielle Wirkung von bestimmten Bondingsystemen von deren niedrigem pH-Wert hervorgerufen werden konnte. Nach Herstellerangaben sind die physikalischen Eigenschaften und die Komposition (mit Ausnahme von MDPB Monomer und Natriumfluorid) von Clearfil™ SE Bond und des zu untersuchenden Clearfil™ Protect™ Bonds gleich (Iwamoto 2004). Erwartungsgemäß dürften zwischen diesen Materialien keinerlei auf physikalische Eigenschaften bzw. den pH-Wert zurückzuführende Unterschiede auftreten. Daher war Clearfil™ SE Bond für diese Studie als Referenzprodukt besonders geeignet, um einen suffizienten Komposit-Dentin-Verbund zu simulieren.

#### *6.1.3.3 Komposit*

Komposit Tetric Ceram HB ist ein kommerziell erhältliches plastisches Füllungs-material. Diese gehört zu den Feinpartikel-Hybridkompositen und wird vom Hersteller („Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein) als besonders gut geeignet für direkte Restaurationen im Seitenzahngebiet empfohlen. Komposit Tetric Ceram HB findet häufige Anwendung in der täglichen zahnärztlichen Praxis. Daher wurde dieses als Füllsubstanz für unsere wissenschaftlichen Untersuchungen ausgesucht.

#### 6.1.4 Kavitätenpräparation und Fülltechnik

Dadurch dass Restaurationsmaterialien (mit Ausnahme von Gruppe OB die ausschließlich nur mit Kompositfüllung behandelt wurde), die chemische (GIZ) (Hellwig et al. 1999; Frankenberger & Krämer 1999) und /oder mechanische (Komposit & Adhäsiv) Haftung an Zahnhartsubstanz aufweisen (Swift et al. 1995, Fritz et al. 2001; Nakabayashi et al. 1991; Frankenberger 2001), verwendet wurden, konnten die Kavitäten unter maximaler Zahnhartsubstanzschonung präpariert werden.

Für die Untersuchungen ausgewählte rundliche, leicht konische, einflächige Kavitäten ( $\varnothing$  4 – 5 mm x T 1,8 – 2 mm) wurden nach Vorzeichnen mit Hilfe von einem markierten Bohrer präpariert, so dass der Forderung nach Standardisierbarkeit entsprochen werden konnte

Die Restauration der Kavitäten erfolgte streng nach Angaben der Hersteller des jeweiligen Produkts. Dadurch wurde ausgeschlossen, dass Versäumnisse in der Bearbeitungstechnik die Ergebnisse beeinträchtigten. Außerdem hat man sich bei den Kompositfüllungen für die Zweischichttechnik entschieden, wobei jede Schicht separat lichtgehärtet wurde. Dies hat zum vollständigen Aushärten des Materials mit nachfolgender Reduktion der Polymerisationsschrumpfung und damit zur Verbesserung der marginalen Adaptation beigetragen (Tjan et al. 1992; Retief 1994).

In Gruppe OB wurde durch den Verzicht auf Adhäsivtechnik die Randspaltbildung gezielt begünstigt, um zu prüfen, wie die Testmaterialien im Vergleich zur

Risikosituation abschneiden, denn vermehrte Randspaltbildung wird als Hauptursache für Sekundärkariesbildung angesehen (Kidd et al. 1992; Mjör et al. 1992; 2002; Manhart 2003).

Nach der groben Überschussentfernung wurden die Füllungen ausgehärtet. Die Politur erfolgte einheitlich mittels Silicon-Carbid-Schleifpapier mittlerer, feiner und schließlich feinsten Körnung. Auf diesem Weg wurde eine gleichmäßige Abtragung von Füllkörpern und organischer Matrix und die damit einhergehende Oberflächenglättung erreicht, ohne dass die marginale Integrität gefährdet wurde (Matis et al. 1991; Schmid et al. 1991). Dennoch konnte das partielle Verbleiben der Schmelzschicht auf der Dentinoberfläche nicht umgangen werden. Das war unter anderem auch ein Grund dafür, weswegen die oberen Schichten der Proben (bis zu 560 µm – 960 µm Entfernung von der Kaufläche) nicht ausgewertet werden konnten. Trotzdem wurde erreicht, dass die ausgewählten Auswertungsbereiche in unterschiedlichen Gruppen vergleichbare primärkariöse Läsionen präsentierten (siehe Abschnitt: 6.2.2.2). Es kann daher von der gleichen Beschaffenheit der auszuwertenden Datenreihe ausgegangen werden.

Eine Übertragung der gewonnenen Ergebnisse auf die Situation in vivo kann jedoch nur begrenzt erfolgen, da gerade bei der approximal liegenden Kavitäten in vivo das Problem der erschwerten Zugänglichkeit, Trockenlegung und Aufbau des Kontaktpunkts mit dem benachbarten Zahn auftritt. In dieser Studie wurden diese Faktoren nicht berücksichtigt, denn die künstliche Simulation von Black Klasse II Restaurationen erfolgte durch das Zerschneiden von bereits gelegten Füllungen, was eine starke Abweichung von der intraoralen Situation darstellt.

### 6.1.5 Künstliche Alterung der Proben

In der Mundhöhle sind Zähne und Restaurationen durch die Zufuhr von heißen und kalten Speisen ständigen Temperatur- und Kaubelastungen ausgesetzt. Bedingt durch den unterschiedlichen thermischen Ausdehnungskoeffizienten von Zahnhartsubstanz und Komposit kommt es zu einer unterschiedlichen Volumenänderungen (Komposit dehnt sich bei Erwärmung stärker aus und bei Abkühlung kontrahiert es sich stärker als Zahnhartsubstanz), dies führt zu vermehrten Spannungen in der Verbundzone zwischen Zahn und Restauration. Diese Spannungen begünstigen das Entstehen von Randspalten (Janda 1988; 1995; Gale & Darvell 1999; Crim & Schmidt 1993; Dietschi & Herzfeld 1998).

Im Gegensatz zu Kompositen charakterisieren sich GIZ durch (dentinähnliche) günstige Wärmeausdehnung, jedoch sind diese weniger verschleißfest und ihre marginale Adaptation ist nicht belastungsresistent genug um Kaubelastungen analog des Amalgams oder Komposites durchzustehen (Glockmann et al. 1997; Davidson & Abdalla 1994). Andererseits aber können Kaubelastungen, die in vivo stattfinden, das Elastizitätsmodul des Komposits und dadurch den Verbund des Restaurationmaterials zur Zahnhartsubstanz beeinträchtigen (Dietschi et al. 2002). Bei der adhäsiven Füllungstherapie sind auf lange Sicht besonders die Gebiete gefährdet, die wegen der Wasseraufnahme und hygroskopischen Ausdehnung des Komposites und /oder des Haftvermittlers dem Phänomen der Quellung unterliegen (Friedl et al. 1997; Kunzelmann et al. 1993; Thonemann et al. 1995).

Um die Proben in vitro entsprechenden thermischen Belastungen wie in vivo auszusetzen, wurden Proben im Thermowechselbad mit 2000 Zyklen bei Tempe-

raturen zwischen 5 °C und 55 °C exponiert. Die gewählten Temperaturen werden als minimal und maximal tolerierbare Temperaturen in der Mundhöhle angenommen (Wendt et al. 1992). 2000 Zyklen bei 50 °C Temperaturdifferenz werden nicht nur als ausreichend, sondern auch als zu hohe Belastung angesehen (Noack 1988; Crim & Mattingly, 1981). Daher kann es bei solch hohen Zyklenzahlen zu einer stärkeren Randspaltbildung gekommen sein, als es in vivo der Fall wäre. Ziel der Studie war es aber, herauszufinden, ob selbst bei bestehenden Randspalten eine Inhibition der Sekundärkariesbildung durch Prüfmaterialien erreicht wird.

Nach den Thermowechselbädern wurden die Füllungen im Kausimulator künstlichen Kaukräften ausgesetzt. Diese Vorgehensweise ist mit der klinischen Situation und auch mit anderen Studien gut vergleichbar. In der Literatur werden die physiologischen Kaukräfte, die in vivo während des Nahrungsverzehrs auf die einzelnen Zähne einwirken, mit bis zu 50 N angegeben (Eichner 1963; Krejci et al. 1990). Gestützt auf diese Werte wurde für diese Versuchsanordnung eine Belastung von 5 kg = ca. 50 N bei 50000 Zyklenzahl gewählt. Daher sind auch hier die Parallelen zu in vivo Verhältnissen zu sehen.

Dennoch konnte intraorale Situation nur hinreichend simuliert werden, denn mit dem verwendeten Kausimulator MUC-II (Willytec GmbH, München, Deutschland) konnte lediglich nur vertikaler Krafteinfluss simuliert werden, die lateralen Belastungen, die bei der natürlichen Kautätigkeit in vivo auftreten, konnten nicht berücksichtigt werden.

### 6.1.6 Lagerung im künstlichen Speichel

Nach Füllungslegung wurden die gefüllten Zähne für 24 Stunden bei 37 °C in künstlichem Speichel gelagert, um während der künstlichen Alterung der Proben die hygroskopische Expansion der Füllungsmaterialien zu berücksichtigen. Diese sollte bei den Kompositfüllungen die Kompensation des durch Polymerisations-schrumpfung hervorgehenden Volumenverlustes bewirken (Bowen et al. 1983; Hansen & Asmussen 1989). Bei dem GIZ aber sollte durch die sofortige Feuchtigkeitslagerung dessen Bruch vermieden werden (Feilzer et al. 1995).

Nach künstlicher Alterung der Proben lagerten diese noch 4 Wochen lang in künstlichem Speichel mit neutralem pH-Wert 6,9 bei 37 °C, um die Freisetzung von kariesprotektiven Bestandteilen aus Füllungsmaterialien nach intraoraler Verweildauer zu berücksichtigen. Künstlicher Speichel wurde in dieser In-vitro-Studie als Lagerungsmedium mit dem Zweck, den Verhältnissen in der Mundhöhle möglichst nahe zu kommen, gewählt. Hierbei ist zu diskutieren, inwieweit die Freisetzung von den verschiedenen kariesprotektiven Bestandteilen aus Füllungsmaterialien durch Lagerung in künstlichem Speichel beeinflusst werden konnte, denn in Referenzstudien wird oft als Lagerungsmedium das Wasser verwendet (Hatibovic-Kofman & Koch 1991; Forsten 1995; Itota et al. (2005); Imazato et al. 1994; 1999). Durch Lagerung der Proben in künstlichem Speichel ist der Ionenaustausch deutlich reduziert. Daher ist auch die Fluoridfreisetzung im menschlichen ebenso wie in künstlichem Speichel signifikant geringer als dies im Aqua destillata der Fall ist (Rezk-Lega et al. 1991; Glockman et al. 1997; El Mallakh & Sarkar 1990). Daher kann erwartet werden, dass sich die in dieser Studie ermittelten Freisetzungsraten von Füllungsbestandteilen durch den Einsatz

von künstlichem Speichel als Lagerungslösung anstelle von Aqua destillata mit der oralen Situation gut vergleichen lassen.

Da die gefüllten Proben nicht in Leitungswasser (0,1 mg/l Fluorid) lagerten, hatten diese keinen Kontakt mit exogenen Fluoridquellen. Dies stellt eine Abweichung von der intraoralen Situation dar, aber es war nicht das Ziel dieser Studie, wiederauflade Effekte von verwendeten Restaurationsmaterialien zu überprüfen. Vielmehr sollte durch dieses Vorgehen erreicht werden, dass Clearfil™ Protect™ Bond an Fluoridionen verliert, um die Wirksamkeit von MDPB Monomer zu testen. Aus diesem Grund wurden die Proben von unterschiedlichen Gruppen in separaten Behälter aufbewahrt, was verhindern sollte, dass aus GIZ freigesetzte höhere Mengen von Fluoridionen in der unmittelbaren Umgebung der mit Clearfil™ Protect™ Bond behandelten Zähnen akkumulierten und möglicherweise von diesem Material aufgenommen werden konnten. Damit auch die von Clearfil™ Protect™ Bond selbst freigesetzten Fluoridionen sich nicht wieder im Füllungsmaterial anlagern konnten, wurde das Lagerungsmedium alle 24 Stunden erneuert. Somit wurde gleichzeitig das regelmäßigen Schlucken des Speichels und die damit verbundene Entfernung freigesetzter Fluoridmengen aus der Mundhöhle zumindest teilweise nachgeahmt.

#### 6.1.7 Mikrocomputertomographie ( $\mu$ Ct)

Das erhöhte Interesse an nichtdestruktiven Methoden für die Zahnmedizinforschung hat dazu beigetragen, dass die mikrocomputertomographische Methode in den letzten Jahren immer häufiger eingesetzt wurde, um die Mineralkonzentration von Zahnhartgeweben zu untersuchen, (Clementino-Luedemann & Kunzelmann

2006). Als non-invasive und non-destruktive radiografische Methode mit hoher Auflösung ermöglicht  $\mu$ CT die zwei- und dreidimensionale Rekonstruktion der zu untersuchenden Proben und die Bestimmung des Mineralverlustes in den vollständigen Zähnen.  $\mu$ CT wird als nützliches Werkzeug für quantitative Messungen in der Dentalforschung bewertet (Mercer & Anderson 1996). Vergleichende Untersuchungen von Clementino-Luedemann (2007) haben gezeigt, dass zwischen den vom  $\mu$ CT ermittelten Ergebnissen und einer bewährten Methode wie der Transversen Mikroradiographie (TMR), die zur Auswertung der Mineraländerungen in den Kariesexperimenten empfohlen worden ist (Arends & Ten Bosch 1992), eine hohe Korrelation besteht. Daher ist sie für eine zerstörungsfreie Analyse von kariösen Prozessen in Schmelz und Dentin durchaus wertvoll.

Durch die Nutzung von  $\mu$ CT-Technik und der von Prof. K-H Kunzelmann entwickelten Software („KHKs Microradiography Simulation for  $\mu$ CT“) konnten in der vorliegenden Arbeit die Tiefe der Primär- und Sekundärkaries ebenso wie der Mineralverlust im Dentin bestimmt werden (siehe Kap.: 4.7).

## **6.2. Diskussion der Ergebnisse**

### 6.2.1 Untersuchungsabschnitt I

#### *6.2.1.1 Eignung der künstlichen Mundhöhle*

Die Ergebnisse der ersten sowie der nachfolgenden Untersuchungen zeigen, dass es mit der gewählten Versuchsanordnung und Apparatur gelingt, eine stoffwechselaktive, streptokokkale Plaque auf den Zähnen zu etablieren. Aussehen und Konsistenz der Plaque entsprachen dem in vivo beschriebenen Zustand.

Im Anhang (siehe Kap.:10.1) sind in Tabellen: 10.1 a, b, c und d gemessene Werte der entstandenen Demineralisationen (Lt und delta Z) zusammengestellt, welche nach Durchführung des Untersuchungsabschnittes I in unterschiedlichen Zeiträumen (W6 und W8) aus verschiedenen Entfernungen vom Füllungsrand ermittelt wurden. Es wird deutlich, dass die gewählte Versuchsanordnung und die verwendete künstliche Mundhöhle geeignet sind, mit Hilfe eines gewählten Streptokokkus mutans-Stamm (ATCC 25175) sekundärkariöse ebenso wie primärkariöse Läsionen zu erzeugen.

Bemerkenswert ist auch, dass auf dem geglätteten Zahnoberflächenbereich, welcher der direkten Spülwirkung der aufgetropften Remineralisationslösungen ausgesetzt war und im Gegensatz zum Spalt- oder Approximalbereich keine ökologische Nische für Bakterien anbot, primärkariöse Läsionen entstanden sind. Dies deutet darauf hin, dass es analog zu den In-vivo-Ergebnissen zu einer festen

Anheftung der Streptokokken an der Zahnhartsubstanz bzw. an der Pellikel gekommen ist (Schiffner 1997).

Weitere Versuche zeigten (siehe Abschnitt: 6.2.2.2), dass es gelungen ist, für alle Versuchsgruppen identische Bedingungen zu schaffen und reproduzierbare artifizielle Läsionen zu erzeugen.

#### *6.2.1.2 Bestimmung der optimalen Versuchsdauer.*

Die entstandenen Demineralisationen in Gruppen W<sup>6</sup> und W<sup>8</sup> waren statistisch nicht signifikant, dennoch war in diesem Untersuchungsabschnitt die statistische Signifikanz zwischen den Gruppen nicht ausschlaggebend; es sollte vielmehr ermittelt werden, ob eine lange Versuchsdauer negative Einflüsse auf die Versuchsanordnung hat.

Dadurch dass die Proben vor dem Einbringen in die künstliche Mundhöhle nicht sterilisiert, sondern nur desinfiziert wurden, bestand das Risiko einer Verunreinigung durch Sporen. Außerdem hätte theoretisch mit zunehmender Versuchsdauer die Sterilität der Apparatur Schwierigkeiten bereiten oder technische Probleme auftreten können, wie z.B. eine Verstopfung der Abflussröhre durch die Plaquemasse oder der Saccharoselösung leitenden Schläuche.

Es wurden weder in den ersten noch in den Folgeversuchen Beeinträchtigungen festgestellt, die den Untersuchungsablauf gefährden oder für eine kürzere Versuchsdauer sprechen würden.

Vielmehr bieten die Ergebnisse, die in Kapitel 5.2. beschrieben wurden, Gelegenheit, sich einen Überblick über die Entwicklung des Demineralisationsprozesses zu verschaffen.

Die Proben, die 6 Wochen lang in der künstlichen Mundhöhle verblieben sind, weisen, vom Füllungsrand ausgehend, eine kontinuierliche Zunahme an Lt und delta Z auf und erreichen 120 µm vom Füllungsrand entfernt Höchstwerte. Diese Entwicklung zeigt keine Vergleichbarkeit mit der intraoralen Situation, denn - wie bekannt - entsteht Karies in Predilektionsstellen und Füllungsrandern häufiger bzw. schneller als auf der glatten Zahnoberflächen (Mjör 1985; 2000; Gaengler et al. 2001; Manhart 2003). Eine Erklärung dafür könnte sein, dass der ausgewertete Bereich 560 µm bis 960 µm von der Zahnoberfläche entfernt lag (70 - 120ste Bildschnitte der µCT-Aufnahmen), wobei die bakterielle Suspension täglich auf die Zahnoberfläche aufgebracht wurde. Die Plaque konnte sich zu diesem Zeitpunkt im tiefen Spaltbereich noch nicht so gut akkumulieren wie auf der Zahnoberfläche und dementsprechend konnte die auf der Zahnoberfläche etablierte größere Plaquemasse viel mehr Säure produzieren und folglich auch tiefere Schichten des Dentins in diesem Bereich stärker entmineralisieren. Mit 8-wöchigem Versuchsablauf verändert sich das Kariesbild vollständig und zeigt die Merkmale, die auch in vivo zu beobachten sind, nämlich eine Abnahme der Lt und insbesondere eine Abnahme des Mineralverlustes, vom Füllungsrand ausgehend, und ist 120 µm vom Füllungsrand entfernt (Bereich der Primärkaries repräsentiert) am wenigstens ausgeprägt.

Diese Ergebnisse lassen den Untersuchungsablauf zurückverfolgen: Nach einer 6 Wochen langen Inkubation der Proben in künstlicher Mundhöhle erreichte die

Plaque eine Volumenmenge über 5 mm und wuchs über die Proben hinaus. Der Volumenzuwachs der Plaque führte dazu, dass die oberen Schichten der Plaque ohne jeglichen Kontakt mit der Zahnoberfläche nur mit untenliegenden Plaque-schichten verbunden waren und durch ihre Masse die am Zahn haftenden Bakt-errienschichten belasteten, so dass die Plaquemasse zum Abrutschen neigte. Daher kam es unter Einwirkung von Spüllösungen zur teilweisen Ablösung der oberen Plaqueschichten von der Zahnoberfläche, wobei im Spaltbereich und in simulierten Approximalflächen die Plaque gut akkumulieren und an Masse zunehmen konnte. Diese Entwicklung führte dazu, dass die vom Füllungsrand entfernten Bereiche im Gegensatz zu den Bereichen nahe der Spalt- und Approximalfläche für die remineralisierenden Lösungen gut zugänglich waren, wo diese ihre Wirkung besser entfalten konnten, was wiederum zum Rückgang des Mineralverlustes und zur Ausgrenzung der Lt in diesem Bereich geführt hat. Es gibt zahlreiche Studien, die eine Remineralisation von Läsionen durch Speichel oder  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  enthaltende Lösungen beschreiben (Tanaka & Kadoma 2000; Exterkate et al. 1993; Meyer-Lueckel et al. 2002; Kielbassa & Meyer-Lueckel 2001). Dabei verläuft der Remineralisationsprozess in vitro erheblich schneller als in vivo (Arends & Gelhard 1983; Larsen & Fejerskov 1989). Dieser Ablauf aber weist eine gute Vergleichbarkeit mit der intraoralen Situation auf, da auch in vivo hauptsächlich approximal liegende Bereiche durch Karies bzw. Sekundärkaries betroffen sind (Mjör 1985; Mjör & Toffenetti 2000; Gaengler et al. 2001). Als Grund dafür werden unter anderem die Hygieneschwierigkeiten, die mit diesem Bereich verbunden sind, genannt (Mjör & Toffenetti 2000). Daher weisen die Proben, die 8 Wochen lang in künstlicher Mundhöhle verblieben sind, eine bessere Vergleichbarkeit mit der intraoralen Situation auf.

Außerdem, wie Abbildungen 5.2a und 5.2b (siehe Kap.: 5.2) zeigen, neigen die Proben nach 8-wöchiger Versuchsdauer im Vergleich zu Proben, die 6 Wochen lang in künstlicher Mundhöhle verblieben sind, zur Steigerung der Demineralisationen im Randspalt anliegenden Bereich. Dieser Bereich stellt für unsere Fragestellungen die eigentliche Interessenszone dar, da dieser in direkten Kontakt mit den Probematerialien kommt.

Weiterhin wäre zu diskutieren ob die fehlende Signifikanz zwischen den Gruppen  $W^6$  und  $W^8$  an den wenigen Probenzahlen liegt. Denn wenn man die einzelnen Messwerte (siehe Anhang Tab.: 10.1.2 a, b, c, d) ins Visier nimmt, wird deutlich, dass die ermittelten Messwerte in unterschiedlichen Gruppen starke Schwankungen aufweisen. Dies gibt Anlass zur Annahme, dass bei höheren Fallzahlen eine erhebliche Differenz der Demineralisationen (bezüglich Lt und delta Z) mit statistischer Signifikanz zu erwarten wäre.

Aus diesen Überlegungen heraus und auch aufgrund der im Vorhinein erwünschten langfristigen Versuchsdauer von 8 Wochen, die nötig ist, um gewisse Aussagen über die Langzeitwirkung der Prüfmaterialien machen zu können, wurde die Untersuchungsdauer für nachfolgende Versuche auf 8 Wochen festgelegt.

## 6.2.2 Untersuchungsabschnitt II und III

### *6.2.2.1 Einfluss der Restaurationsmaterialien auf die Entstehung von sekundärkariösen Läsionen.*

Keines von den untersuchten Materialien war in der Lage, Sekundärkaries komplett zu stoppen: Bei Fluorid freisetzenden GIZ (hier Fuji IX) war Sekundärkaries ebenso wie Primärkaries am wenigsten ausgeprägt und damit erweisen sich GIZ als absolute Sieger im Kampf gegen Sekundärkaries. Übereinstimmend mit diesen Arbeitsergebnissen zeigte auch eine Vielzahl von anderen Studien, dass GIZ durch Fluoridfreisetzung nachweislich gegen Karies und Sekundärkaries schützen können (Forss & Seppä 1990; Friedl et al. 1992; Benelli et al. 1993; Forsten 1994; Strübig 1988).

Bedenkt man aber, dass zahlreiche Studien (Forss & Seppä 1990; Seppä et al. 1992; Seppä 1994; Davies et al. 1995) über die Erschöpfung des Fluoridreservoirs innerhalb der ersten Wochen nach der Füllungslegung berichten, wenn GIZ mit keiner exogenen Fluoridquelle in Kontakt kommen, stellt sich die Frage: Wie konnten GIZ in dieser Untersuchung nach 4 Wochen langer Lagerung in künstlichem Speichel immer noch unter Karies fördernden Bedingungen, die 8 Wochen andauerten, Karies inhibierende Wirkung erzielen? El Mallakh & Sarkar (1990) fanden heraus, dass die Fluoridfreisetzung aus Restaurationsmaterialien in künstlichem Speichel signifikant niedriger ist als die Freisetzung in Aqua destillata. Glockmann et al. (1997) bestätigten diese Ergebnisse in einer Studie über Fluoridfreisetzung aus GIZ. Allgemein wird die Fluoridfreisetzung von Füllungsmaterialien pH gesteuert (Forsten 1990; 1995): Im saurem Milieu (pH 4,0)

wird Fluorid stärker freigesetzt als in einem neutralen Umgebungsmedium mit pH 6,8 (Attin et al. 1996(a)). Da in der vorliegenden Studie als Lagerungsmedium künstlicher Speichel mit pH Wert von 6,9 verwendet wurde, ist davon auszugehen, dass die Fluoridfreisetzung von GIZ-Füllungen minimiert war, was dazu führte, dass GIZ während des bakteriell bedingten pH-Abfalls in der künstlichen Mundhöhle immer noch ausreichend Fluoridmengen bereitstellen und Karies inhibieren konnten.

Doch im Laufe der Untersuchungen offenbarten sich auch die bereits in anderen Studien mehrfach erwähnten Schwachstellen dieser Materialien, die sich auf unbefriedigende physikalische Eigenschaften beziehen, wie mangelnde Bruch-, Druck- und Kantenfestigkeit, die häufig hohe Abrasionsraten, marginale Diskontinuität oder Füllungsfrakturen, unzureichende Verschleißfestigkeit sowie ungenügende Belastungsresistenz, was im Vergleich zu modernen Kompositen eine schlechtere marginale Adaptation zur Folge hat (Frankenberger & Krämer 1999; Glockmann et al. 1997). In einer Studie von Davidson & Abdalla (1994) zeigten vor allem die Gruppen mit GIZ-Restaurationen eine Verschlechterung der Randqualität unter zusätzlicher Belastung in einem Kausimulator. Die Gruppen mit dentinadhäsiver Versorgung wiesen nur dann schlechtere Ergebnisse auf, wenn Behandlungen ohne Dentinätzung vorgenommen wurden. Nach künstlicher Alterung der Proben waren in GIZ-Füllungen entstandene Risse, eine stärker ausgeprägte Randspaltbildung und der stärkere Verschleiß des Materials im Vergleich zu den Gruppen, die mit Komposit bzw. Komposit /Adhäsiv behandelt wurden, auch hier nicht zu übersehen.

Das zweitbeste Ergebnis bezüglich des Sekundärkariesschutzes wurde in der Gruppe PB erzielt. Setzt man voraus, dass Clearfil Protect Bond und Clearfil SE Bond grundsätzlich die gleiche Komposition, ähnliche physikalische Eigenschaften und dasselbe adhäsive Monomer MDP besitzen und das gleiche Anwendungsverfahren haben (Iwamoto 2004), dann lassen sich die signifikanten Unterschiede bezüglich Mineralverlustes beim Vergleich der Gruppen SB<sub>1</sub> und PB<sub>1</sub> (Messungen direkt an Kavitätenrändern) auf den MDPB Monomer, enthalten in Clearfil Protect Bond, zurückführen. Imazato et al (1994; 1998) berichteten dass das MDPB Monomer auch nach der Polymerisation durch Direktkontakt Bakterien eliminiert und dadurch kariesprotektiv wirkt. Die Ergebnisse dieser Studie stimmen mit den Angaben von Imazato et al. (1994; 1997; 1998; 2003) überein. Die durch Prof. Schmalz (2003) postulierte Theorie, wonach durch die Vernetzung bei der Polymerisation antibakterielle Eigenschaften vom MDPB Monomer gestoppt werden, konnte hinsichtlich der Ergebnisse dieser Studie nicht bestätigt werden. Wir konnten zeigen dass Clearfil Protect Bond auch nach der Polymerisation den Mineralverlust am Randspalt (bzw. an Bond) angrenzenden Dentin signifikant dämmen konnte. Dennoch unterstützen unsere Untersuchungen die Ergebnisse von Schmalz et al. (2004(a)), denn auch wir konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen PB und SB feststellen bei Messungen, die vom Kavitätenrand 40 µm, 80 µm oder 120 µm entfernt lagen. Ausgehend davon, dass eine signifikante Inhibition des Mineralverlustes bei Clearfil Protect Bond nur im unmittelbar an die Füllungen angrenzenden Dentin detektiert werden konnte, verdeutlicht, dass MDPB tatsächlich nur während des Direktkontakts mit Bakterien seine Aktivität entfalten kann. Es wird klar, warum in Untersuchungen von Schmalz et al. (2004(a)) keine antibakterielle Wirkung vom polymerisierten MDPB

Monomer ermittelt werden konnte: Eine 200 µm starke Dentinscheibe zwischen Bakterium und Testmaterial hat eine gewisse Schutzfunktion geleistet.

Die von Feuerstein et al. (2007) und Waschinski (2007) diskutierte Freisetzungstheorie über MDPB, wonach Clearfil Protect Bond nach kurzer Zeit nach der Füllungslegung seine Aktivitäten verlieren sollte (Feuerstein et al. (2007) geben eine antibakterielle Wirkung von 14 Tagen an, Waschinski (2007) eine von 19 Tagen für S.aureus und für in dieser Studie verwendete S.mutans sogar eine von nur 4 Tagen), wurde durch diese Arbeit widerlegt. Wir konnten zeigen, dass Clearfil Protect Bond auch nach 4 Wochen langer Lagerung in künstlichem Speichel und 8 Wochen lang andauernden Untersuchungen in künstlicher Mundhöhle, wo die Proben der ständigen Spülwirkung der Lösungen ausgesetzt waren (das ergibt eine Untersuchungsdauer von insgesamt ca. 3 Monaten), Karies hemmen konnte. Imazato et al. (1994) berichteten, dass nach 3-monatiger (90 Tagen) Lagerung in Wasser bei MDPB beigesetzten, polymerisierten Kompositfüllungen, eine antibakterielle Wirkung beobachtet werden konnte. Die Lagerungszeit stimmt exakt mit der Prüfdauer in dieser Arbeit überein.

Setzt man voraus, dass das im Clearfil Protect Bond enthaltene MDPB Bakterien im Randspalt eliminiert und dadurch Mineralverlust hemmt, dann muss hinterfragt werden, warum bezüglich der Lt keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen SB<sub>1</sub> und PB<sub>1</sub> ermittelt werden konnten.

Einen Erklärungsansatz für diese Fragestellung bieten die in den Tabellen 5.3c und 5.3d (siehe Kap. 5.3) dargestellten Ergebnisse, die eigentlich einen Kariesangriff in unterschiedlichen Untersuchungsgruppen repräsentieren (siehe Kap.5.3, Abb.

5.3.1c und 5.3.1d). Grundsätzlich gilt, dass das Ausmaß an Karies desto stärker ist, je schneller und je mehr *Streptokokkus mutans* die Zahnoberfläche kolonisiert (Loesche et al. 1984; Berkowitz 2003; Featherstone 2003;). Die ermittelten Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich die ursprüngliche Kariesquelle in den Gruppen F und PB nicht im Randspaltbereich, sondern außerhalb des Randspaltes befindet, wobei in den Gruppen OB und SB die höchsten Karieswerte im Spaltbereich liegt.

Durch die vermehrten Randspalten bei der Gruppe OB ist die Keimbesiedlung begünstigt worden und die Plaque hat schneller eine kritische Masse erreicht, so dass das an den Randspalt angrenzende Dentingewebe von Anfang an einem starken kariogenen Angriff von allen Seiten (Randspaltbereich, Außenläsionsbereich und Approximalbereich) ausgesetzt war. Dementsprechend konnten die Demineralisationen früher einsetzen. Daher war die sekundäre Wandläsion bezüglich Lt ebenso wie bezüglich des Mineralverlustes in Gruppe OB<sub>1</sub> signifikant stärker ausgeprägt als in anderen Gruppen.

Wie bekannt, ist in Verbindung mit Adhäsivsystemen die Haftkraft des Komposits an der Zahnhartsubstanz wesentlich größer als die der chemischen Haftung der GIZ (Aboush & Jenkins 1986; Lin et al.1992). In Gruppe F war nach visueller Einschätzung die Randspaltbildung dementsprechend höher als in den Gruppen SB und PB. Daher dürfte es auch hier ziemlich früh zur Plaquebesiedlung gekommen sein. Dennoch haben zahlreiche Studien gezeigt, dass GIZ an die umliegende Zahnhartsubstanz Fluoride abgeben und so zu einer Hypermineralisation im angrenzenden Bereich mit Demineralisationsresistenz führen (Ten Cate & Van Duinen 1995; Wandera 1998). Folglich konnte GIZ auch in dieser Untersuchung

dem kariösen Angriff durch Fluoridfreisetzung entgegenwirken und trotz vermehrter Randspaltbildung den Mineralverlust minimieren und das Fortschreiten von Karies hemmen. Die Meinung von Glasspoole & Erickson (1993), dass die aus GIZ freigesetzten Fluoride Randspalten kompensieren, konnte hinsichtlich der Ergebnisse dieser Studie nachgewiesen werden.

Darüber hinaus wäre es durchaus möglich, dass aus GIZ freigesetzte Fluoride eine Hemmung des Wachstums von *S. mutans* bzw. die Verminderung der Säureproduktion dieser Bakterien bewirkt haben (Friedl et al. 1992; 1997(a); Seppä et al. 1993). Damit könnte der kariesprotektive Effekt, der aus der Einlagerung des aus GIZ freigesetzten Fluorids in der Zahnhartsubstanz hervorgeht, noch zusätzlich unterstützt werden. Aber die erwähnte Verminderung der Säureproduktion von *S. mutans* konnten Seppä et al. (1993) nur bei frisch angemischtem GIZ-Füllungen innerhalb der ersten 24 Stunden feststellen. Nach 4 Wochen war diese antibakterielle Eigenschaft von GIZ nicht mehr nachweisbar.

Die Gruppen PB und SB ähneln sich in ihrem Randspaltverhalten, weil hier Adhäsivsysteme verwendet wurden. Wie bekannt, stellt der Verbund zwischen Dentin und Komposit eine große Herausforderung in der Zahnmedizin dar (Swift 1995; Gladys et al 2001). Die Polymerisationsschrumpfung vom Komposit hat ebenso wie die thermische und mechanische Belastung der Proben auch in dieser Untersuchung zur Ausbildung von Randspalten zwischen dem Komposit und Dentin geführt. Doch durch die Verwendung des Adhäsivsystems wurde das Ausmaß des Randspaltes in Gruppen SB und PB minimiert. Daher dürfte es in der Gruppe SB zu einer verzögerten Besiedelung des Randspaltes und damit auch zu einem etwas späteren kariösen Angriff auf die angrenzende Zahnhartsubstanz

vonseiten des Spaltraumes gekommen sein. Dementsprechend waren auch Lt und Mineralverlust in der Gruppe SB<sub>1</sub> geringer als in der Gruppe OB<sub>1</sub>.

Das in Clearfil Protect Bond enthaltene MDPB Monomer soll dazu beigetragen haben, dass sich in den Randspalten der Gruppe PB keine stoffwechselaktiven Bakterien anlagern konnten, was zur Folge hatte, dass das an Clearfil Protect Bond angrenzende Dentin keinem oder einem nur sehr geringen Kariesangriff seitens des Randspaltraumes ausgesetzt war. Da in der Gruppe PB im Gegensatz zu den Proben, die mit GIZ gefüllt waren, keine durch Fluoridionen hervorgerufene Hypermineralisation und damit einhergehende Demineralisationsresistenz der Zahnhartsubstanz gegeben war, konnte die Karies sich in Richtung Randspalten ausbreiten. Aufgrund des fehlenden Säureangriffs durch den Randspaltbereich war der Mineralverlust geringer als in der Gruppe SB<sub>1</sub>. Auch Pinto et al. (2009) konnten in 14-tägigen In-situ-Untersuchungen feststellen, dass in Schmelzproben, die mit Clearfil Protect Bond behandelt wurden, auf eine Entfernung bis zu 20µm von der Restauration ein niedrigerer Mineralverlust entstanden war als beim Clearfil SE Bond. Auch Kuramoto et al. (2005) haben in ihrer In-vitro-Studie gezeigt, dass sich durch die Behandlung der Proben mit MDPB enthaltendem Bondingsystem Mineralverlust aufhalten ließ.

Auf einer Entfernung von 40 µm und 80 µm sind signifikante Unterschiede zwischen den mit dem Clearfil Protect Bond behandelten Proben und ohne Adhäsiv gefüllten Zähnen nachzuweisen. Wobei mit Clearfil SE Bond behandelte Proben eine Zwischenstellung einnehmen, indem sie sich weder von den Gruppen PB<sub>5</sub> und PB<sub>10</sub> noch von den Gruppen OB<sub>5</sub> und OB<sub>10</sub> bezüglich Lt oder Mineralverlusts signifikant unterscheiden. Daraus resultierend lässt sich ableiten, dass Clearfil

Protect Bond zwar eine sekundäre Außenläsion nicht am Entstehen hindern kann, weil diese wie eine Primärkaries unabhängig von existierenden Randspalten in Nachbarschaft einer Füllung entsteht, (Hals & Kvinnsland 1974), aber durch Isolation des Spaltraumes von Bakterien eine Reduktion dessen Ausmaßes bewirkt.

Weiterhin soll hinterfragt werden, ob die durch den Hersteller propagierte zusätzlich kariesprophylaktische Wirkung, die aus dem in Clearfil Protect Bond integrierten Natriumfluorid hervorgehen soll (Iwamoto 2004), in dieser Untersuchung eine Rolle gespielt haben könnte. Konzentrationen an von Clearfil Protect Bond freigesetzten Fluorid-Ionen konnten in dieser Arbeit aufgrund des Studiendesigns nicht ermittelt werden. Aber in der Literatur vorhandene Erkenntnisse lassen Schlussfolgerungen bezüglich dieser Fragestellung auch für diese Studie zu. Peris et al. (2006) untersuchten in einer In-vitro-Studie Fluorid Konzentrationen in Fluorid freisetzenden Adhäsiven und dessen Wirkung auf die Entstehung von Sekundärkaries. Die Arbeitsgruppe fand heraus, dass die von Clearfil™ Protect™ Bond freigesetzte Fluoridkonzentration median 0,002 ppm betrug, was eindeutig zu niedrig ist, um der Kariesentstehung im Dentin entgegenzuwirken. Da das Dentin aufgrund seines strukturellen Aufbaus leichter löslich ist und die Kristalle kleiner sind (Ten Cate 1999), sind im Vergleich zur Schmelzkaries deutlich höhere Fluoridkonzentrationen nötig, um eine Dentinkaries zu stoppen (Almqvist & Lagerlöf 1993; Featherstone 1994). Eine Remineralisation der Schmelz-läsionen fängt erst an mit 0.03 ppm-Fluorid im künstlichen Speichel oder in der Plaque. Für eine optimale Remineralisation ist eine Fluoridkonzentration von 0.08 ppm-Fluorid erforderlich (Featherstone 1999; 2000; Ten Cate 1999; Ten Cate & Van Loveren 1999). Es wurde bis jetzt nur für GIZ berichtet,

dass in vivo innerhalb von 3 Wochen nach der Füllungslegung der Fluoridgehalt des Speichels von 0,04 ppm auf 0,8 ppm steigt (Hatibovic-Kofman & Koch 1991). Auch Peris et al. (2006) konnten keine Sekundärkaries inhibierende Wirkung bei Clearfil Protect Bond beobachten, als Karies unter Einwirkung der Säurelösungen erzeugt wurde. Daher lässt sich die Schlussfolgerung ziehen, dass in dieser Untersuchung die bei bakteriellbedingter Karieserzeugung erzielte Reduktion der Sekundärkaries nicht an der durch beigesetzte Fluoride verursachte Säureresistenz der Zahnhartsubstanz liegt, sondern an der durch MDPB hervorgerufene Eliminierung der Bakterien und dementsprechend verringertem Säureangriff im Randspaltbereich. Auch Itota et al. (2002) beobachteten, dass die Fluorid enthaltenden Adhäsivsysteme nur in Verbindung mit Fluorid freisetzenden Restaurationsmaterialien aufgrund der erhöhten Fluoridfreisetzung in der Lage waren, Sekundärkaries zu hemmen. Gleichzeitig berichteten diese Autoren, dass das gleiche Fluorid freisetzende Adhäsiv in Verbindung mit Restaurationsmaterialien, die kein Fluorid freisetzen, keine Reduktion der Karies erzielen konnten. In unserer Studie wurde Clearfil Protecht Bond in Verbindung mit Tetric Ceram HB („Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein), das kein Fluorid enthält, verwendet. Wenn man aber, gestützt auf andere Studien, die meinen, dass Fluorid freisetzende Adhäsivsysteme einen Weg zur Kariesinhibition darstellen könnten (Kerber & Donly 1993), trotzdem annimmt, dass der Fluoridgehalt in Clearfil Protecht Bond zur Reduktion des Mineralverlustes in dieser Studie beigetragen haben könne, soll diesbezüglich erwähnt werden, dass in der Literatur eine Meinungsgleichheit darüber herrscht, dass die Fluoridfreisetzung von anderen Materialien wesentlich geringer ist als bei GIZ (Forsten 1990 ; Schiffner & Bröckel 1999). Zwar lagerten die Proben 4 Wochen lang in künstlichem Speichel, wo die Fluoridfreisetzung wesentlich herabgesetzt ist, aber trotzdem wird die

Fluoridfreisetzung aus den Füllungsmaterialien nicht komplett gestoppt. Erwartungsgemäß sollten diese geringen Mengen an vom Clearfil Protect Bond freigesetzten Fluorid bis zum Einbringen der Proben in die künstliche Mundhöhle schon längst verloren gegangen sein. Auch Schmalz et al. (2004(a)) kamen zum Schluss, dass die Karies inhibierende Wirkung von aus Clearfil Protect Bond freigesetztem Fluorid eher begrenzt sei.

#### *6.2.2.2 Überprüfung der Ergebnisse*

Die Fläche, deren Abstand 120 µm vom Kavitätenrand betrug, wurde als Kontrollfläche der Primärkaries definiert. Messungen in diesem Bereich sollten einen Überblick darüber verschaffen, ob alle Gruppen einem gleich starken kariösen Angriff ausgesetzt waren und ob durch gewählte Versuchsanordnung der Forderung nach Reproduzierbarkeit der Läsionen entsprochen werden konnte. Statistische Ergebnisse zeigen, dass in diesem Bereich alle Gruppen (PB<sub>15</sub>, SB<sub>15</sub>, OB<sub>15</sub>) mit Ausnahme der Gruppe F<sub>15</sub> eine homogene Untergruppe bilden, es gibt keine Unterschiede bezüglich des Mineralverlusts oder der Läsionstiefe zwischen den Gruppen PB<sub>15</sub>, SB<sub>15</sub> und OB<sub>15</sub>. Diese Ergebnisse belegen ohne Zweifel, dass für alle Gruppen gleiche Bedingungen geschaffen werden konnten und dass die Reproduzierbarkeit von artifiziellen Läsionen gegeben war. Dass in der Gruppe F signifikant weniger Karies (bezüglich Lt & delta Z) entstanden ist als in anderen Versuchsgruppen, lässt sich auf Fluorid-Ionen, die aus GIZ freigesetzt werden, zurückführen. Es wurde gezeigt, dass durch Kontakt mit GIZ der Fluoridgehalt im Schmelz sogar bis zu 3 mm von GIZ entfernt signifikant steigt (Fischer-Brandies et al. 1991). Es wurde auch im Dentin neben GIZ eine signifikante Fluoridanreicherung verzeichnet (Mukai et al. 1993). Dieses aus GIZ freigesetzte Fluorid

wird also auch im Dentin eingebaut und führt dort zu einer erhöhten Säureresistenz (Tsanidis & Koulourides 1992). Wie In-vitro-Untersuchungen von Dunne et al. 1996 zeigen, führt diese erhöhte Säureresistenz zu einer Inhibition einer Karies im Dentin. Die Fluoridkonzentrationen in Zahnhartsubstanzen nehmen jedoch mit Vergrößerung des Abstandes zur Füllung ab (Mukai et al. 1993; Fischer-Brandies et al. 1991).

## 7. Schlussfolgerung

In der vorliegenden Untersuchung führte der Verzicht auf adhäsive Behandlung vor dem Legen der Füllung in 50 % der Fälle zu Füllungsverlust, nachdem die Testzähne den Karies fördernden Bedingungen unterzogen waren. Dabei ergaben die Ergebnisse auch, dass - wie erwartet - die Bildung von Sekundärkaries in diesen Gruppen am höchsten ausfiel, was darauf hindeutet, dass die Adhäsivsysteme in der ästhetischen Füllungstherapie nicht wegzudenken sind und eine Grundvoraussetzung für die Füllungstherapie darstellen.

Die Bildung von Sekundärkaries zeigte sich geringer in den Gruppen, in denen vor der Füllungslegung Adhäsive angewendet wurden, wobei die Gruppen, die mit Clearfil Protect Bond, das antibakterielles Monomer MDPB enthält, behandelt wurden, signifikant geringere sekundäre Wandläsionen (bzw. Mineralverlust in diesem Bereich) zeigten als die Gruppen, die mit Clearfil SE Bond, das keine antibakteriellen Zusätze beinhaltet, behandelt wurden. Laut der Ergebnisse der vorliegenden Studie konnte eine deutliche Karies inhibierende Wirkung des Clearfil Protect Bonds nach der Polymerisation nachgewiesen werden. Nach der 4 Wochen langen Lagerung in dem künstlichen Speichel und der 8 Wochen langen Spüllösung-Aussetzung der mit Clearfil Protect Bond behandelten Proben bewirkte das Produkt eine Verbesserung der Ergebnisse bezüglich Sekundärkariesinhibition in den Bereichen, die sich mit dem Testmaterial in direktem Kontakt befanden. So kann auf der Basis der vorliegenden Ergebnisse der Rückschluss gezogen werden, dass von Restaurationsmaterialien die das antibakterielle Monomer MDPB enthalten, eine dauerhafte bakterizide Wirkung zu erwarten ist und daher die

Verwendung von derartigen Produkten im Sinne der präventiven Maßnahmen gegen die Randspaltkaries durchaus zu empfehlen ist.

Allerdings ergaben die Ergebnisse auch, dass die Karies hemmende Wirkung, die von Fluorid freisetzenden GIZ (in diesem Fall Fuji IX) hervorgeht, durch die Verwendung des Clearfil Protect Bonds weitgehend nicht erreicht wird. Die Gruppen, die mit GIZ behandelt wurden, zeigten geringste Sekundärkariesbildung. Daher bleiben GIZ weiterhin auf Grund ihres Potenzials, Sekundärkaries zu hemmen, ein Ziel der Forschung mit der Hoffnung auf die Verbesserung der werkstofflichen Schwächen wie Ästhetik, Bruch- und Verschleißfestigkeit.

## 8. Zusammenfassung

Adhäsive Füllungstherapie scheitert oft an den Folgen von Sekundärkaries. Bakterielle Infektionen nach dem Legen der Füllung führen häufig zu Pulpa-schädigungen und Füllungsverlusten. Auch während der Erstbehandlung in der Kavität verbliebene Bakterien können über den Erfolg der Restaurationen entscheiden. Daher ist es sinnvoll auf Karies hemmende Füllungswerkstoffe zurück zu greifen.

Aufgabe der vorliegenden In-vitro-Studie war es daher zu untersuchen, ob ein antibakterielles Adhäsiv - Clearfil Protect Bond, das ein antibakterielles Monomer MDPB (12-Methacryloyloxydodecylpyridiniumbromid) und Natriumfluorid beinhaltet, die Entstehung von Sekundärkaries im Bereich von Füllungsrandspalten inhibieren kann. Die Effektivität von Clearfil Protect Bond sollte vergleichend mit bisher genutzten und bewährten Restaurationsmaterialien wie Fluorid freisetzendem Glasionomerzement - Fuji IX (bekannt als Kariesprotektiv) und MDP (10-Methacrylat-oxydecyl Dehydrogenphosphat) enthaltendem Clearfil SE Bond (bekannt durch stabile und gute Haftwerte) untersucht werden.

Für die Durchführung der Untersuchungen wurde eine künstliche Mundhöhle gebaut. Für die gesamte Studie wurden 24 kariesfreie menschliche Molaren verwendet. In diesen wurden Kavitäten der Black Klasse I ( $\varnothing$  4 – 5 mm x T 1,8 – 2 mm) präpariert. Die Zähne wurden randomisiert in 4 Gruppen geteilt und unterschiedlich behandelt:

1. Die Proben der Gruppen OB dienten als negatives Beispiel für vermehrte Randspaltbildung, sie wurden ohne die Anwendung des Haftvermittlers mit Komposit (Tetric Ceram HB der Firma „Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein) gefüllt.

2. Gruppe F: Fuji IX (“GC” Europe, Leuven, Belgien)

3. Gruppe SB: Clearfil™ SE Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan und Komposit (Tetric Ceram HB der Firma „Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein)

4. Gruppe PB: Clearfil™ Protect™ Bond (Kuraray Medical Inc., Okayama, Japan) und Komposit (Tetric Ceram HB der „Ivoclar Vivadent“, Schaan, Liechtenstein)

Die Restaurationen wurden der thermischen Wechselbelastung (2000 Zyklen, 5 °C und 55 °C) und Kausimulation (50000 Zyklen, 5 kg Belastung) unterzogen, um Randspalten zu induzieren. Vor dem Einbringen in die künstliche Mundhöhle lagerten die gefüllten Zahnproben 4 Wochen lang in sterilem künstlichem Speichel. Die Simulation der Black Klasse II Restaurationen erfolgte durch Separation der Zähne in zwei gleich große Hälften (mesiale und distale Teile). Nach 20 Minuten langer Desinfektion in 70 % Ethanol wurden die Probekörper in die künstliche Mundhöhle eingebracht und einkeimiger streptokokkaler Plaque ausgesetzt, um sekundärkariöse Läsionen zu erzeugen.

Die Studie wurde in drei Untersuchungsabschnitten mit jeweils 8 Zähnen durchgeführt. In Untersuchungsabschnitt I wurde die optimale Verweildauer der Zahnproben in künstlicher Mundhöhle für die Demineralisationsentstehung ermittelt. Diese wurde auf 8 Wochen festgesetzt. Weiterhin folgten identische Untersuchungsabschnitte II und III, die jeweils 8 Wochen lang andauerten. Durch dieses Vorgehen wurde die Aussagekraft der ermittelten Ergebnisse gesichert. Das

Ausmaß der entstandenen Demineralisationen an den Kavitätenrändern wurde in einem  $\mu$ CT- Gerät gemessen.

Die erzielten Ergebnisse ließen erkennen, dass keines der verwendeten Materialien in der Lage war die Sekundärkaries am Entstehen komplett zu hindern. Wie erwartet, entstand in den Gruppen OB, die ohne Adhäsivsystem restauriert wurden, im Vergleich zu den anderen Gruppen (SB, PB, F) signifikant mehr Sekundärkaries. Die mit Clearfil Protect Bond behandelten polymerisierten Proben zeigten signifikant weniger ausgeprägte Sekundärkaries (bzw. Mineralverlust) in Bereichen, die direkt am Restaurationsmaterial angrenzten, als Gruppen wo Clearfil SE Bond angewendet wurde. Ab einer Entfernung von 40  $\mu$ m und mehr (80  $\mu$ m; 120  $\mu$ m) von der Kavitätenrand konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen Materialien (PB und SB) festgestellt werden. Als kariesprotektive Materialien nehmen die Fluorid freisetzenden Glasionomere eine führende Stellung ein, denn in den Gruppen der mit Fuji IX behandelten Proben entstanden signifikant geringere sekundär- und primärkariöse Läsionen als in anderen Gruppen (SB, PB, OB).

Aus den Ergebnissen dieser In-vitro-Studie lässt sich ableiten, dass das MDPB Monomer auch nach der Polymerisation antibakteriell wirkt und dass es im feuchten Milieu nicht freigesetzt wird, so dass durch die Verwendung von Clearfil Protect Bond ein permanenter Schutz vor Sekundärkaries im Randspaltbereich zu erwarten ist. Daher kann für dieses Produkt eine Praxisempfehlung ausgesprochen werden.

Da die zell- und pulpatoxischen Effekte, die eventuell von dem MDPB Monomer hervorgerufen werden können, in dieser Untersuchung nicht berücksichtigt wurden, muss es Ziel weiterer Studien sein, die Biokompatibilität dieses Produktes zu prüfen.

Ob die in dieser In-vitro-Studie ermittelten Ergebnisse sich ohne weiteres auch in vivo übertragen lassen, bleibt den weiterführenden klinischen Langzeitstudien überlassen.

## 9. Literaturverzeichnis

**Aboush** YEY, Jenkins CBG. (1986) An evaluation of the bonding of glassionomer restoratives to dentine and enamel. *Br Dent J* 161(2203):179-184

**Almqvist** H, Lagerlöf F. (1993) Influence of constant fluoride levels in solution on root hard tissue de- and remineralization measured by <sup>125</sup>I absorptiometry. *Caries Res* 27:100-5

**Angmar** B, Carlstrom D, Glas JE. (1963) Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastruct Res* 8: 12-23.

**Arends** J, Gelhard TBFM. (1983) In vivo-Remineralisation menschlichen schmelzes. *Oralprophylaxe* 5:21-27

**Arends** J, Ten Bosch JJ (1992) Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 71:924-928

**Attin** T, Vataschki M, Hellwig E. (1996) Properties of resin-modified glassionomer restorati-ve materials and two polyacid-modified resin composite materials. *Quintessence Int* 27: 203

**Attin** T, Kielbassa AM, Plogmann S, Hellwig E. (1996(a)) Fluoridfreisetzung aus Kompomeren im sauren und neutralen Milieu. *Dtsch Zahnärztl Z* 51: 675-8

**Ayad** MF, Rosenstiel SF, Woelfel JB. (1998) The effect of recementation on crown retention. *Int J Prosthodont* 11: 177

**Bagg** J, MacFarlane TW, Poxton IR, Miller CH, Smith AJ. (1999) Essentials of Microbiology for Dental Students. Oxford University Press, Oxford

**Bauer** CM, Kunzelmann K-H, Hickel R. (1996) Silikophosphat- und Glasionomerzemente - eine Amalgamalternative? *Dtsch Zahnärztl Z* 51:339

**Benelli** EM, Serra MC, Rodrigues Jr. AL, Cury JA. (1993) In situ anticariogenic potential of glass ionomer cement. *Caries Res* 27: 280-4

**Berkowitz** RJ. (2003) Acquisition and transmission of mutans streptococci. *J Cal Dent Assoc* 31(2): 135-8

**Boer** WM. (2006) Interessante neue Indikationen für selbstkonditionierende Adhäsive aus der Sicht eines niedergelassenen Arztes. *Quintessenz* 57(5):507-10

- Bowen** RL, Nemoto K, Rapson JE. (1983) Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues developing in composite materials during hardening. J Am Dent Assoc 106 : 474
- Bounocore** MG. (1955) A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 34: 849-53
- Bradshaw** DJ, McKnee AS, Marsh PD. (1989) Effects of carbohydrate pulses and pH on population shifts within oral microbial communities in vitro. J Dent Res 68: 1298-1302
- Brantley** CF, Bader JD, Shugars DA, Nesbit SP. (1995) Does the cycle of rerestitution lead to larger restorations? J Am Dent Assoc 126: 1407-13.
- Busscher** HJ, Weerkamp AH, Van Der Mei HC, Van Pelt AW, De Jong HP, Arends J. (1984) Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion. Appl Environ Microbiol 48(5): 980-3
- Carlsson** J, Grahnén H, Johnsson G. (1975) Lactobacilli and streptococci in the mouth of children. Caries Res 9:333-9
- Celik** EU, Ergücü Z, Türkün LS, Türkün M. (2006) “Shear bond strength of different adhesives to Er:YAG laser-prepared dentin”. J Adhesive Dent 8(5): 319-25
- Chieffi** N, Chersoni S, Papacchini F, Vano M, Goracci C, Carel L, Davidson C, Franklin R, Tay F, Ferrari M. (2005) The effect of adding an antibacterial monomer on the bond quality of a luting cementation system. International Dentistry South. SCIENTIFIC AFRICA 8 (1) / in: googlescholar
- Chieffi** N, Chersoni S, Papacchini F, Vano M, Goracci C, Davidson C, Tay F, Ferrari M. (2009) The effect of application sustained seating pressure on adhesive luting procedure. Dent Mater 23(2):159-64
- Clarke** J. (1924) On the bacterial factor in the aetiology of dental caries. Br J Exp Pathol:141-6
- Clementino-Luedemann** TNR, Kunzelmann K-H. (2006) Mineral Concentration of Natural Human Teeth by a Commercial Micro-CT. Dent Mater 25(1): 113-9
- Clementino-Luedemann** TNR. (2007) MICRO-COMPUTED TOMOGRAPHY IN CARIES RESEARCH. Dissertationsschrift, Med. Fak. LMU München
- Coulter** WA, Russell C. (1976) pH and Eh in single and mixed culture bacterial plaque in an artificial mouth. J Appl Bacteriol 40:73—87.

- Crim GA, Mattingly S. (1981)** Evaluation of two methods for assessing marginal leakage. *J Prosth Dent* 45:2
- Crim GA, Schmidt AD. (1993)** Effect of aging in microleakage of restorative systems *Am J Dent* 6:192-4
- Cutress TW, Sissons CH, Pearce EI, Wong L, Anderssen K, Angmar Mansson B. (1995)** Effects of fluoride-supplemented sucrose on experimental dental caries and dental plaque pH. *Adv Dent Res* 9:14-20
- Damato FA, Strang R, Stephen KW. (1988)** Comparison of solution- and gel-prepared enamel lesions - an in vitro pH-cycling study. *J Dent Res* 67:1122-25
- Damen JJM, Buijs MJ, Ten Cate JM. (1996)** Uptake and release of fluoride by saliva-coated glass ionomer cement *Caries Res* 30:454-7
- Davidson CL, Abdalla AI. (1994)** Effect of occlusal load cycling on the marginal integrity of adhesive Class V restorations. *Am J Dent* 7:111-13
- Davies EH, Pearson GJ, Anstice HM, Moronfolu C. (1995)** Studies on release /absorption from resin modified glass-ionomers and related materials. *J Dent Res* 74:833
- Davis GR, Wong FSL. (1996)** X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiol Meas* 17(3):121-46.
- De Carvalho F, Puppim-Rontani R, Soares L, Santo A, Martin A, Nociti-Junior F. (2009)** Mineral distribution and CLSM analysis of secondary caries inhibition by fluoride/MDPB-containing adhesive system after cariogenic challenges. *J Dent* 37(4):307-14
- De Josselin de Jong E, Ten Bosch JJ, Noordmans J. (1987)** Optimised microcomputer-guided quantitative microradiography on dental mineralised tissue slices. *Phys Med Biol* 32:887-99
- Demirci M, Hiller K-A, Boslb C, Gallerb K, Schmalz G, Schweikl H. (2008)** The induction of oxidative stress, cytotoxicity, and genotoxicity by dental adhesives. *Dent Mater* 24:362–71
- Dietschi D, Herzfeld D. (1998)** In vitro evaluation of marginal and internal adaption of class II resin composite restorations after thermal and occlusal stressing. *Eur J Oral Sci* 106:1033-42
- Dietschi D, Bindi G, Krejci I, Davidson C. (2002)** Marginal and internal adaptation of stratified compomer-composite Class II restorations. *Oper Dent* 27: 500-9

- Dowker SEP, Davis GR, Elliott JC. (1997)** X-ray microtomography – Nondestructive three-dimensional imaging for in vitro endodontic studies. *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol, Endod* 83:510-16
- Dummer PMH, Edmunds DH, Green RM. (1982)** Demineralisation of human enamel by *Streptococcus mutans* NCTC 10832 using a sequential batch culture technique. *Caries Res* 16:193-6
- Dung SZ, Gregory RL, Li Y, Stookey GK. (1995)** Effect of Lactic Acid and Preolytic Enzymes on the Release of Organic Matrix Components from Human Root Dentin. *Caries Res* 29:483-9
- Dunne SM, Goolnik JS, Millar BJ, Seddon RP. (1996)** Caries inhibition by a resin modified and a conventional glass ionomer cement, in vitro. *J Dent* 24:91-4
- Eichner K. (1963)** Messung der Kaukräfte bei Kauvorgängen. *Dtsch Zahnärztl Z* 18(17):915-924
- Ellen RP, Lépine G, Nghiem PM. (1997)** In vitro models that support adhesion specificity in biofilms of oral bacteria. *Adv Dent Res* 11:33-42
- El Mallakh BF, Sarkar NK. (1990)** Fluoride release from glass-ionomer cements in deionized water and artificial saliva. *Dent Mater* 6:118-22
- Engelke K, Karolczak M, Lutz A, Seibert U, Schaller S, Kalender W. (1999)** Mikro-CT Technologie und Applikationen zur Erfassung von Knochenarchitektur: *Der Radiologe* 39 (3): 203-12
- Enright JJ, Friesell HE, Trescher MO. (1932)** Studies of the cause and nature of dental caries. *Journal of Dental Research*;12: (zitiert: Tang et al.2003)
- Eriksen HM, Bjertness E, Hansen BF. (1986)** Cross-sectional clinical study of quality of amalgam restorations, oral health and prevalence of recurrent caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 14 (1):15-8
- Exterkate RAM, Damen JJM, Ten Cate JM. (1993)** A Single-section Model for Enamel Deand Remineralization Studies. 1. The Effects of Different Ca/P Ratios in Remineralization Solutions. *J Dent Res* 72:1599-1603.
- Fazzi R, Vieira DF, Zucas SM. (1977)** Fluoride release and physical properties of a fluoride containing amalgam. *J Prosthet Dent* 38:526-31
- Featherstone JDB, Rodgers BE. (1981)** Effect of Acetic, Lactic and Other Organic Acids on the Formation Artificial Carious Lesions. *Caries Res* 15:377-385

- Featherstone JDB. (1994)** Fluoride, remineralization and root caries. *Am J Dent* 7:271-4
- Featherstone JDB. (1996)** Modeling the caries-inhibitory effects of dental materials. *Dent Mater* 12:194-197
- Featherstone JDB. (1999)** Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 27:31-40
- Featherstone JDB. (2000)** The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc* 131:887-99
- Featherstone JDB. (2003)** The caries balance: Contributing factors and early detection. *J Cal Dent Assoc* 31(2):129-33
- Featherstone JDB, Adair SM, Anderson MH, Berkowitz RJ, Bird WF, Crall JJ, Den Besten PK, Donly KJ, Glassman P, Milgrom P, Roth JR, Snow R, Stewart RE. (2003)** Caries Management by Risk Assessment: Consensus Statement April 2002. *J Cal Dent Assoc* 31(3): 257-69
- Feilzer AJ, Kakaboura AI, de Gee AJ, Davidson CL. (1995)** The influence of water sorption on the development of setting shrinkage stress in traditional and resin-modified glass ionomer cements. *Dent Mater* 11(3):186-90
- Feuerstein O, Matalon S, Slutzky H, Weiss EI. (2007)** Antibacterial properties of self-etching dental adhesive systems *J Am Dent Assoc (JADA)* 138:349-54
- Fischer-Brandies H, Kluge G, Theusner J, Häusler K. (1991)** Fluorverteilung im Schmelz bei Einsatz von Glasionomercementen als Befestigungswerkstoff. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd* 79:349-355
- Flessa H-P, Kunzelmann K-H, Neubauer J, Hickel R. (1994)** Randschluß zervikaler Füllungen bei verschiedenen Füllungstechniken *Dtsch Zahnärztl Z* 49(10): 800-4
- Forss H, Seppä L. (1990)** Prevention of enamel demineralization adjacent to glass ionomer filling materials. *Scand J Dent Res* 98:173-8
- Forss H, Seppä L, Lappalainen R. (1991)** In vitro abrasion resistance and hard-ness of glassionomer cements. *Dent Mater* 7: 36-39
- Forsten L. (1990)** Short- and long-term fluoride release from glass ionomers and other fluoride-containing filling materials in vitro. *Scand J Dent Res* 98: 179-85
- Forsten L. (1991)** Fluoride release and uptake by glass ionomers. *Scand J Dent Res* 99: 241-45

- Forsten L. (1994)** Fluoride release of glass ionomers. *J Esthet Dent* 6:216-22
- Forsten L. (1995)** Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and uptake. *Acta Odontol Scand* 53(1764):222-5
- Frankenberger R, Krämer N. (1999)** Glasionomerzemente. Boer WM. (Hrsg.): Metallfreie Restaurationen, Band 1, Teil 4, Spitta Verlag, Balingen
- Frankenberger R. (2001)** Materialkundliche Grundlagen der Adhäsivtechnologie. Die Adhäsivtechnologie, Ein Leitfaden für Theorie und Praxis. 3M ESPE
- Frankenberger R. (2001)** Techniksensitivität von Denitnadhäsiven. BZB Dezember 30-2
- Frankenberger R, Perdigao J, Rosa BT, Lopes M. (2001)** “No-bottle“ vs „multi-bottle“ dentin-adhesives – a microtensile bond strength and morphological study. *Dent Mater* 17:373-80
- Friedl, K.-H., Schmalz, G., Hiller, K.-A. (1992)** Flüssigkeitskulturen zur Prüfung der Wirkung zahnärztlicher Werkstoffe auf das Bakterienwachstum. *Dtsch Zahnärztl Z* 47: 826-31
- Friedl KH, Hiller KA, Schmalz G. (1995)** Placement and replacement of composite restorations in Germany. *Oper Dent* 20:34-8
- Friedl KH, Schmalz G, Hiller KA, Mortazavi F. (1997)** Marginal adaptation of composite restorations versus hybrid ionomer/composite sandwich restorations. *Oper Dent* 22:21-9
- Friedl K-H, Schmalz G, Hiller K-A, Shams M. (1997(a))** Resin-modified glass ionomer cements: fluoride release and influence on streptococcus mutans growth. *Eur J Oral Sci* 105:81-85
- Fritz UB, Diedrich P, Finger WJ. (2001)** Self-etching primers - an alternative to the conventional acid etch technique? *J Orofac Orthop* 62:238-245
- Fusayama T, Terashima S. (1972)** Differentiation of two layers of carious dentine by staining. *Bull Tokyo Med Dent Univ* 19:83-92
- Gaengler P, Hoyer I, Montag R. (2001)** Clinical evaluation of posterior composite restorations: the 10-year report. *J Adhes Dent* 3:185-94
- Gale MS, Darvell BW (1999)** Thermal cycling procedures for laboratory testing of dental restorations. *J Dent* 27(2):89-99
- GC EUROPE N.V. Austrian Office. (1999)** Zahnmedizin aktuell / Dentalmarkt aktuell. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 109(1)

**Gelhard** TBFM, Arends J. (1984). Microradiography of in vivo remineralized lesions in human enamel. / Biol Buccale 12:59-65.

**Gernhardt** C. (1997) Der Einfluß von zwei Dentinhaftvermittlersystemen auf die Entstehung und Progression der Wurzeloberflächenkaries, ein in vitro Studie. Inaugural Dissertation Freiburg i.Br.

**Gibbons** RJ, van Houte J. (1980): Bacterial Adherence and the Formation of Dental Plaques. In: Beachey EH, London Ed. Bacterial Adherence. Chapman and Hall 61-104.

**Gibbons** RJ. (1994) Microbial ecology: Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. J Dent Res 63:378

**Gilmour** ASM, Edmunds DH, Newcombe RG, Clark MF. (1993) An in vitro study into the effect of a bacterial artificial caries system on the enamel adjacent to composite and amalgam restorations. Caries Res 27:169-75

**Gilmour** AS, Edmunds DH. (1998) The polarized light microscopic appearance of caries-like lesions adjacent to restored cavities in the crowns and roots of extracted human teeth. J Oral Rehabil 25(12): 929-39

**Gladys** S, Van Meerbeek B, Lambrechts P, Vanherle G. (2001) Microleakage of adhesive restorative materials. Am J Dent 14:170-6

**Glanz** PO, Baier RE, Christersson CE. (1996) Biochemical and physiological considerations for modeling biofilms in the oral cavity: a review. Dent Mater 12(3): 208-14

**Glasspoole** EA, Erickson RL. (1993) In vitro investigation of the caries inhibition effects of fluoride releasing materials. J Dent Res 72:284

**Glockmann** E, Gehroldt C, Triemer K. (1997) Freisetzung von Fluorid aus unterschiedlichen Glasionomerzementen. Dtsch Zahnärztl Z 52:668-9

**Goldberg** J, Tanzer J, Munster E, Amara J, Thal F, Birkhed D. (1981) Cross-sectional clinical evaluation of recurrent enamel caries, restoration of marginal integrity, and oral hygiene status. J Am Dent Assoc 102(5):635-41.

**Gurpinar** A, Onur MA, Cehreli ZC, Tasman F. (2006) Cytotoxicity of Two-step Self-etching Primer/Adhesives on L929 Cells. Journal of Bioactive and Compatible Polymers 21: 55

**Haller** B, Hofmann N, Klaiber B, Bloching U. (1993) Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. Dent Mater 9:191-7

**Haller B. (1994)** Mechanismus und Wirksamkeit von Dentinhaftvermitlern. Dtsch Zahnärztl Z 49: 750-759

**Haller B, Trojanski A. (1998)** Effect of multi –step dentin bonding systems and resin-modified glass ionomer cement liner on marginal quality of dentin-bonded resin composite Class II restorations. Clin Oral Invest 2:130-6

**Hals E, Kvinnsland I. (1974)** Structure of experimental *in vitro* and *in vivo* lesions around composite (Addent XV) fillings. Scand J Dent Res 82:517

**Hannig M. (1994)** Bildung Funktion und Bedeutung der Pellikel I. Biochemische, bakteriologische und strukturelle Aspekte. Oralprophylaxe 16:39-46

**Hannig M. (1997)** Transmission electron microscopy study of *in vivo* pellicle formation on dental restorative materials. Eur J Oral Sci 105: 422-33

**Hansen EK, Asmussen E. (1989)** Marginal adaptation of posterior resins: effect of dentinbonding agent and hygroscopic expansion. Dent Mater 5(2):122-6

**Hatibovic-Kofman S, Koch G. (1991)** Fluoride release from glass ionomer cement *in vivo* and *in vitro*. Swed Dent J 15: 253-8

**Heidemann D, Hellwig E, Hickel R, Klaiber B, Staehle HJ.** Übersicht der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung (**DGZ**) und der Deutschen Hochschullehrer für Zahnerhaltung zum Thema "Die Bewertung direkter Komposit-Restaurationen". Version 1.

<http://www.dr-magnusson.de/pdf/dr-magnusson-composite.pdf>

**Hellwig E, Attin T, Metke W. (1993)** Beeinflusst eine Fluoridlackapplikation die Deund Remineralisation von kariösen Initialläsionen *in vitro*? Schweiz Monatsschr Zahnmed 103:150-5

**Hellwig E, Klimek J, Attin T. (1999)** Einführung in die Zahnerhaltung. Urban & Fischer Verlag München Aufl. 2

**Hickel R. (1997)** Moderne Füllungswerkstoffe. Dtsch Zahnärztl Z 52:572-581

**Holzmeier M, Schaubmayr M, Dasch W, Hirschfelder U. (2008)** A New Generation of Self-etching Adhesives: Comparison with Traditional Acid Etch Technique. Die neue Generation selbstkonditionierender Adhäsive im Vergleich zur konventionellen Ätztechnik. J Orofac Orthop 69:78–93

**Hudson DE, Donoghue HD, Perrons CJ. (1986)** A laboratory microcosm (artificial mouth) for the culture and continuous pH measurement of oral bacteria on surfaces. Journal of Applied Bacteriology 60:301-10.

**Huster K. (1991)** In-vitro-Studien zur Beeinflussung der Sekundärkariesentwicklung durch Fluoride. Halle, Univ. Med.Fak. Diss-Schr.

**Hurst PS, von Fraunhofer JA. (1978)** In vitro studies of fluoridated amalgam. J Oral Rehab 5:51-62

**Ibarra G, Vargas MA, Geurtsen W. (2007)** Grenz- und Oberflächencharakteristika zweier selbstätzender Adhäsive nach Applikation auf unbeschiffenem und beschiffenem Rinderschmelz – Eine qualitative Studie. DZZ 62:443-51

**Imazato S, Torii M, Tsuchitani Y, McCabe JF, Russell RRB. (1994)** Incorporation of Bacterial Inhibitor into resin composite J Dent Res 73(8):1437-1443

**Imazato S, McCabe JF. (1994)** Influence of Incorporation of antibacterial monomer on curing behavior of a dental resin composite J Dent Res 73:1641-5

**Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Torii M, Russell RRB, McCabe JF. (1997)** Incorporation of Antibacterial Monomer MDPB into dentin primer J Dent Res 76(3):768-72

**Imazato S, Ehara A, Torii M, Ebisu S. (1998)** Antibacterial activity of dentin primer containing MDPB after curing. J Dent 26:267–71

**Imazato S, Imai T, Russell RR, Torii M, Ebisu S. 1998(a)** Antibacterial activity of cured dental resin incorporating the antibacterial monomer MDPB and an adhesion-promoting monomer. J Biomed Mater Res 39(4):511-5

**Imazato S, Imai T, Ebisu S. (1998 b)** Antibacterial activity of proprietary self-etching primers. J Dent 11:106-8

**Imazato S, Tarumi H, Kato S, Ebisu S. (1999)** Water sorption and colour stability of composites containing the antibacterial monomer MDPB. J Dent 27(4): 279-83

**Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russell RRB, Kaneko T, Ebisu S. (1999a)** Bactericidal activity and cytotoxicity of antibacterial monomer MDPB. Biomaterials 20(9):899-903

**Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. (2000)** Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. J Dent 28: 61–7

**Imazato S. (2001)** A new adhesive system incorporating an antibacterial monomer MDPB: its efficacy and benefit. In: Self-etching primer: current status and its evolution. Proceedings of the International Symposium '01; June 26; Tokyo.

- Imazato S, Torii Y, Takatsuka T, Inoue K, Ebi N, Ebisu S. (2001)** Bactericidal effect of dentin primer containing antibacterial monomer methacryloyl-oxydodecylpyridinium bromide (MDPB) against bacteria in human carious dentin. *J Oral Rehabil* 28:314-319
- Imazato S, Walls AWG, Kuramoto A, Ebisu S. (2002)** Penetration of an antibacterial dentin-bonding system into demineralized human root dentine in vitro. *Eur J Oral Sci* 110: 168-74
- Imazato S. (2003)** Antibacterial properties of resin composites and dentin bonding systems. *Dent Mater* 19:449-457
- Imazato S, Ebi N, Takahaschi Y, Kaneko T, Ebisu S, Russell RB (2003a).** Antibacterial activity of bactericide-immobilized filler for resin-based restoratives. *Biomaterials* 24:3605-3609
- Imazato S, Kinomoto Y, Tarumi H, Ebisu S, Tay FR. (2003)** Antibacterial activity and bonding characteristics of an adhesive resin containing antibacterial monomer MDPB. *Dent Mater* 19:313-19.
- Imazato S. (2004)** Neue Ära in der restaurativen Zahnheilkunde. *Dental Magazin.* 2:90-91
- Imazato S, Kaneko T, Takahashi Y, Noiri Y, Ebisu S. (2004)** In vivo antibacterial effects incorporating MDPB. *Oper Dent* 29:369-75.
- International Organisation for Standardization (ISO), Technical Committee 106/SC1/WG11. (1991)** Dental materials: Guidance on testing of adhesion to tooth structure Committee draft: ISO/TC 106/SC 1 N 236 resolution 6
- Itota T, Nakabo S, Iwai Y, Konishi N, Nagamine M, Torii Y. (2002)** Inhibition of artificial secondary caries by fluoride-releasing adhesives on root dentin. *J Rehabil Oral* 29: 523 – 7
- Itota T, Nakabo S, Narukami T, Toshiro Y, Torii Y, McCabe JF, Yoshiyama M. (2005)** Effect of two-step adhesive systems on inhibition of secondary caries around fluoride-releasing resin composite restorations in root dentine. *J Dent* 33(2):147-154
- Iwamoto N“N”. (2004)** A New Adhesive: “Clearfil Protect Bond”. Adhesive Technology Solutions. Kuraray Dental by kuraray America Inc vol. 02:01: 1-7
- Jaberi AZ, Sadr A, Moezizadeh M, Aminian R, Ghasemi A, Shimada Y, Tagami J, Jaberi AS, Moayedi S. (2008)** Effects of One-year Storage in Water on Bond

Strength of Self-etching Adhesives to Enamel and Dentin. *Dent Mater J* 27(2):266-272

**Janda R. (1988)** [Conditioning tooth hard substance with acids and complex-builders. 2. Dentin]. *Phillip J Restaur Zahnmed* 5(5):265-74

**Janda R. (1995)** Preparation of extracted natural human teeth for SEM investigations. *Biomaterials* 16:209-217

**Jenkins GN. (1978)** The physiology and biochemistry of the mouth. Blackwell Oxford 288-357 / 395-412

**Johnston MM, Kaake J, Agnew MC. (1933)** The relationship of lactobacillus acidophilus to dental caries in experimental animals and in human beings. *J Am Dent Assoc* 1777-84

**Kaneko T, Imazato S, Ebi N, Kuramoto A, Noiri Y and Ebisu S. (2001)** In vivo antibacterial effect of dentin primer incorporating MDPB. [Special Issue] *J Dent Res* 80:659

**Katz S, Park KK, Stookey GK, Schemehorn BR. (1986)** Development and initial testing of a model for in vitro formation of pit and fissure caries. *Caries Research* 20:424-8.

**Kawasaki K, Featherstone JDB. (1997)** Effects of collagenase on root demineralization. *J Dent Res* 76 (1): 588-595

**Kerber LJ, Donly KJ. (1993)** Caries inhibition by fluoride-releasing primers. *Am J Dent* 6:216-18

**Keyes PH. (1962)** Recent advances in dental carious research. Bacteriology. Bacteriological findings and biological implications. *Int Dent J* 12:443-64

**Kidd EAM.(1989)** Kariesdiagnose bei Zähnen mit Füllungen. *Phillip J* 6:325-36

**Kidd EAM, Toffenetti F, Mjör IA.(1992)** Secondary caries.*Int Dent J* 42:127-38

**Kidd EAM, Joyston-Bechal S, Beighton D. (1995)** Marginal ditching and staining as a predictor of secondary caries around amalgam restorations: A clinical and microbiological study. *J Dent Res* 74:1206-11

**Kidd EAM, Beighton D. (1996)** Prediction of secondary caries around toothcolored restorations: A clinical and microbiological study. *J Dent Res* 75:1942-6

**Kidd EAM. (2001)** Diagnosis of secondary caries. *J Dent Educ* 65:997

**Kielbassa** AM, Meyer-Lueckel H. (2001) Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin. Schweiz Monatsschr Zahnmed 111:1060-6.

**Klimek** J, Hellwig E, Ahrens G. (1982) Fluoride taken up by plaque, by the underlying enamel and by clean enamel from three fluoride compounds in vitro. Caries Res 16:156-61

**Klimm** W. (1997) Kariologie – ein Leitfaden für Studierende und Zahnärzte. Hanser Verlag München-Wien 141-145 & 195-207

**König** KG. (1987) Karies und Parodontopathien. Thieme, Stuttgart

**König** K. (1971) Karies und Kariesprophylaxe. München: Wilhelm Goldmann Verlag GmbH

**Korbmacher** H, Huck L, Adam T, Kahl-Nieke B. (2006) Evaluation of an antimicrobial and fluoride-releasing self-etching primer on the shear bond strength of orthodontic brackets. Eur J Orthod 28:457–61

**Koulaouzidou** EA, Helvatjoglu-Antoniades M, Palaghias G, Karanika-Kouma A, Antoniades D. (2008) Cytotoxicity evaluation of an antibacterial dentin adhesive system on established cell lines. J Biomed Mater Res B, 84(1):271-6

**Krämer** N, Kunzelmann K.-H, Pollety T, Pelka M, Hickel R. (1994) Langzeiterfahrungen mit Cermet-Zementfüllungen in Klasse I/II-Kavitäten. Dtsch Zahnärztl Z 49: 905

**Krejci** I, Reich T, Lutz F, Albertoni M. (1990). In-vitro-Testverfahren zur Evaluation dentaler Restaurationssysteme. 1. Computergesteuerter Kausimulator. Schweiz Monatsschr Zahnmed 100(8):953-960

**Krejci** I, Besek M, Lutz F. (1995) Feinpartikel-Hybridkomposite in Seitenzähnen. Phillip J 12, 89

**Kröncke** A (1981) Sekundärkaries. Dtsch Zahnärztl Z 36:69-73

**Kühnisch** J, Tranaeus S, Stößer L. (2002) Die quantitative lichtinduzierte Fluoreszenzmessung – eine zukünftige Methode für den Zahnarzt? Quintessenz 53(2):131-141

**Kunzelmann** K-H, Krause F, Hickel R. (1993) Dentinhaftung von Kompositfüllungen und Keramikinlays in Klasse II Kavitäten. Dtsch Zahnärztl Z 48:724-7

- Kunzelmann K-H. (2003)** in: Schlauer als das Auge / Kariesdiagnostik und Risikotests – Marketinggag oder Essenziel? (*A.P.S. Kampfansage an die Karies*). Brisant Dental Magazin 1
- Kuramoto A, Imazato S, Walls AWG, Ebisu S. (2005)** Inhibition of Root Caries Progression by an Antibacterial Adhesive. *J Dent Res* 84(1):89-93
- Larsen MJ, Fejerskov O. (1989)** Chemical and structural challenges in remineralization of dental enamel lesions. *Scand J Dent Res* 97: 285-6
- Leinfelder KF. (1995)** Posterior composite resins: the materials and their clinical performance. *J Am Dent Assoc* 126: 663
- Lin A, Mc Intyre NS, Davidson RD. (1992)** Studies on the adhesion of glass-ionomer cements to dentin. *J Dent Res* 71(1063):1836-1841
- Listgarten MA. (1987)** Nature of periodontal diseases: pathogenetic mechanism. *J Periodont Res* 22:172
- Loesche WJ, Eklund S, Earnest R, Burt B. (1984)** Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay: Epidemiological studies in molars shortly after eruption. *Infect Immun* 46: 765-772
- Loesche WJ. (1986)** Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev* 50: 353-80.
- Lussi A, Schaffner M, Suter P, Hotz P. (1989)** Toxikologie der Amalgame. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 99:54
- Magitot E. (1878)** Treatise on dental caries (Trans by Chandler TH). Boston: Osgood; (zitiert: Tang et al. 2003)
- Manhart J, Chen HY, Kunzelmann KH, Hickel R. (2000)** Haftkraft und Randverhalten moderner Einflächiger Haftvermittlungssysteme und Komposite zum Dentin. *Dtsch Zahnärztl Z* 55:128-133
- Manhart J, Schmidt M, Chen HY, Kunzelmann KH, Hickel R. (2001)** Marginal quality of tooth-colored restorations in class II cavities after artificial aging. *Oper Dent* 26:357-66
- Manhart J. (2003)** Überlebenszeitanalyse von konservierend-zahnärztlichen Restaurationen. *ZWR - Das Deutsche Zahnärzteblatt* 112:142-155.
- Marsh P, Martin M. (1999)** *Orale Mikrobiologie* vol 4. Thieme Verlag
- Matis BA, Carlson T, Cochran M, Philips RW. (1991)** How finishing affects Glass Ionomers. *JADA* 122: 43-46

- Matzker J, Schreiber J. (1972)** Synthetischer Speichel zur Therapie der Hyposalivation, insbesondere der radiogenen Sialadenitis. *Laryngo Rhino Otol* 51:422-428
- McKee AS, McDermid AS, Ellwood DC, Marsh PD. (1985)** The Establishment of Reproducible, Complex Communities of Oral Bacteria in the Chemostat Using Defined Inocula, *J Appl Bacteriol* 59:263-275
- Mehl A, Hartl S, Kunzelmann K-H, Hickel R. (1994)** Quantitative und qualitative Randspaltanalyse zervikaler Füllungen. *Dtsch Zahnärztl Z* 49:815-8
- Mehl A, Hickel R, Kunzelmann K-H. (1997)** Physical properties and gap formation of light-cured composites with and without 'softstart-polymerization' *J Dent* 25(3-4):321-30
- Meiers JC, Miller GA. (1996)** Antibacterial activity of dentin bonding systems, resin-modified glass ionomers, and polyacid-modified composite resins. *Oper Dent* 21(6):257-64
- Mercer CE, Anderson P. (1996)** X-ray microtomography: a novel technique for the quantification of effects in enamel following CO2 laser application. *Br Dent J* 180(12):451-455
- Meyer-Lueckel H, Schulte-Monting J, Kielbassa AM. (2002)** The effect of commercially available saliva substitutes on pre-demineralized bovine dentin in vitro. *Oral Dis* 8:192-198
- Miller WD. (1892)** Die Mikroorganismen der Mundhöhle. vol 1. Thieme Verlag Leipzig.
- Mixson JM, Richards ND, Mitchell RJ. (1993)** Effects of dentin age and bonding on microgap formation. *Am J Dent* 6(1179):72-76
- Mjör IA. (1985)** Frequency of secondary caries at various anatomical locations. *Oper Dent* 10:88-92
- Mjör IA, Toffenetti F. (1992)** Placement and replacement of resin-based composite restorations in Italy. *Oper Dent* 17:82-5
- Mjör IA. (1996)** Glassionomer cement restorations and secondary caries: A preliminary report. *Quintessence Int* 27: 171
- Mjör IA, Toffenetti F. (2000)** Secondary caries: a literature review with case reports. *Quintessence Int* 31(3):165-79.

- Mjör IA**, Shen C, Eliasson ST, Richter S. (2002) Placement and replacement of restorations in general dental practice in Iceland. *Oper Dent* 27:117
- Moodley D**, Grobler S, Oliver A. (2005) Cytotoxicity of a Self-etching Dentine Bonding Agent. *Dent Mater / The Preliminary Program for First African and Middle-East IADR Federation Conference* (Sept. 27-29)
- Mukai M**, Ikeda M, Yanagihara T, Hara G, Kato K, Nakagaki H, Robinson C. (1993) Fluoride uptake in human dentine from glass-ionomer cement in-vivo. *Arch Oral Biol* 38:1093-8
- Mukai Y**, Lagerweij MD, Ten Cate JM. (2001) Effect of a solution with high fluoride concentration on remineralization of shallow and deep root surface caries in vitro. *Caries Res* 35:317-24
- Nakabayashi N**, Nakamura M, Yasuda N (1991) Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism. *J Esthet Dent* 3(4):133-8.
- Newbrun E**. (1993) Problems in caries diagnosis. *Int Dent J* 43:133-142
- Nicholson JW**, Croll TP. (1997) Glass-ionomer cements in restorative dentistry. *Quintessence Int* 28:705
- Noack MJ**. (1988) Quantitative Füllungsrandanalyse von Frontzahnkompositen im Rastelektronenmikroskop nach thermischer Wechselbelastung. *Dtsch Zahnärztl Z* 43:295-9
- Noorda WD**, Van Montfort AMAP, Purdell-Lewis DJ, Weerkamp AH. (1986) Developmental and metabolic aspects of a monobacterial plaque of *Streptococcus mutans* C 67-1 grown on human enamel slabs in an artificial mouth model. *Caries Res*. 20:300-7
- Nover U**. (2000) Komposit-Füllungen: Lassen sich die Schrumpfungen verhindern? ZBay Online: nach einem Beitrag in *Acta Med Dent Helv* 5: 1/2000
- Nowotny R**. IBMTP,WS 02/03 ; Grundlagen der diagnostischen Bildgebenden Verfahren I (MCW- Block2); Kurzfassung der Präsentation
- Orland FJ**, Blayney JR, Harison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Wagner M, Gordon HA, Luckey TD. (1954) Use of the germfree animal technic in the study of the experimental dental caries. Basic observations on rats reared free of allmicroorganisms. *J Dent Res*, 33:147-74.
- Orland FJ**, Blayney JR, Harison RW, Reyniers JA, Trexler PC, Ervin RF, Gordon HA, Wagner M. (1955) Experimental caries in germ free rats inoculated with enterococci. *J Am Dent Assoc* 50:259-273

- Ozer F, Alptekin T, Cobanoglu N, Unlu N, Imazato S. (2008)** The Effect of MDPB on Dentin Bridging of Exposed Pulp. Bio-active Restorative Materials and Desensitizing Agents July Seq #145 [Selcuk University Research Grant; Metro Toronto Convention Centre (1494)]
- Pelka M, Ebert J, Schneider H, Krämer N, Petschelt A. (1996)** Comparison of two- and three-body wear of glass-ionomers and composites. *Eur J Oral Sci.* 104: 132-7
- Perdigao J, Lopes M. (1999)** Dentin Bonding – questions for the new millenium. *J Adhes Dent* 1:191-209
- Perdigao J, Geraldeli S, Hodges JS. (2003)** Total-etch versus self-etch adhesive: effect on postoperative sensitivity. *J Am Dent Assoc* 134:1621-1629
- Peris A, Mitsui F, Lobo M, Bedran-russo A, Marchi G. (2006)** Adhesive systems and secondary caries formation: Assessment of dentin bond strength, caries lesions depth and fluoride release. *Dent Mater* 23(3):308-316
- Peters OA, Peters CI, Schonenberger K, Barbakow F (2003).** ProTaper rotary root canal preparation: effects of canal anatomy on final shape analysed by micro CT. *Int Endod J* 36:86-92.
- Peutzfeldt A. (1997)** Resin composites in dentistry: the monomer systems. *Eur J Oral Sci* 105: 97-116
- Phankosol P, Ettinger RL, Hicks MJ, Wefel JS. (1985)** Histopathology of the initial lesion of the root surface: an in vitro study. *J Dent Res.* 64 (5): 804-809.
- Pigman W, Newbrun E. (1962)** Evaluation of anticaries agents by the use of the artificial mouth. *J Dent Res* 41:1304—11.
- Pinto CF, Leme AFP, Ambrosano GMB, Giannini M. (2009)** Effect of a Fluoride- and Bromide-containing Adhesive System on Enamel Around Composite Restorations Under High Cariogenic Challenge In Situ. *J Adhesive Dent* 11(4):293 – 7
- Reeh ES, Douglas WH, Levine MJ. (1996)** Lubrication of saliva substitutes at enamel-to-enamel contacts in an artificial mouth. *Journal of Prosthetic Dentistry* 75: 649—56.
- Reis A, Giannini M, Pereira P. (2009)** Long-term TEM analysis of the nanoleakage patterns in resin–dentin interfaces produced by different bonding strategies. *Dent Mater* 23(9):1164-72
- Rezk-Lega F, Ogaard B, Rolla G. (1991)** Availability of fluoride from glass-ionomer luting cements in human saliva. *Scand J Dent Res* 99: 60-63

- Retief DH. (1994)** Do adhesives prevent microleakage? *Int Dent J* Feb 44 (1): 19-26
- Rhodes JS, Ford TRP, Lynch JA, Curtis RV. (2001)** A comparison of two nickel-titanium instrumentation techniques in teeth using microcomputed tomography. *Int Endod J* 33(3):279-285.
- Rolland SL, Walls AW, Imazato S, McCabe JF.** Biofilm formation on the surface of dentine bonding resins. **(2008)** *Clinical Oral Microbiology July Seq #207*
- Roulet, JF. (1994)** Zahnfarbene Restaurationen als Amalgam-Alternativen. *Dtsch Zahnärztl Z* 11: 859
- Roulet JF. (1994a)** Marginal integrity: clinical significance *J Dent* 22(1): 9-12
- Sanderink R. (2005)** Curriculum Orale Mikrobiologie und Immunologie. Quintessenz Verlags-GmbH, Berlin, vol 1
- Sarah LR, McCabe JF, Robinson C, Angus W, Walls G. (2006)** In vitro biofilm formation on the surface of resin-based dentine adhesives. *Eur J Oral Sci* 114: 243-249
- Spreafico RC, Krejci I, Dietschi D. (2005)** Clinical performance and marginal adaptation of class II direct and semidirect composite restorations over 3.5 years in vivo. *J Dent* 33: 499-507
- Schmalz G. (1998)** The biocompatibility of non-amalgam dental filling materials. *Eur J Oral Sci* 106: 696
- Schmalz G.** (Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie Universität Regensburg). **(2003)** Biological and antibacterial properties of adhesives. Kuraray-Symposium „Dentin Adhesives“ConsEuro Munich
- Schmalz G, Hiller K-A, Waha C, Koch A. (2004)** Antimicrobial Effect of Substances for Endodontic Therapy. *J Dent Res* 83 (Spec Iss B): Seq # 0171
- Schmalz G, Ergüzü Z, Hiller K-A. (2004(a))** Effect of dentin on the antibacterial activity of dentin bonding agents. *Journal Endodont*; 30(5): 352 – 8
- Schmid O, Krejci I, Lutz F. (1991)** Ausarbeitung von adhäsiven zahnfarbenen Inlays aus Komposit und Keramik. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 101:177-184
- Schiele R. (1997)** Die Amalgamfüllung - Verträglichkeit. *Eur J Oral Sci* 105:81
- Schiffner U. (1997)** Der Einfluss von Speichelproteinen auf die Demineralisation von Zahnschmelz Untersuchungen in einer künstlichen Mundhöhle. *Habil-Schr Hamburg Univ. Hanser Verlag Wien*

**Schiffner** U, von Bröckel U. (1999) Die Fluoridabgabe aus drei fluoridhaltigen Kompositen im Vergleich zur Fluoridfreisetzung aus einem Glasionomerzement. Dtsch Zahnärztl Z 54:568-71

**Schiffner** U, Reich E. (1999) Prävalenzen zu ausgewählten klinischen Variablen bei den Erwachsenen (35-44 Jahre). Deutscher Ärzteverlag (DMS III):247-334.

**Schiffner** U, Regel I, Saul L. (2004) Zur Fluoridabgabe aus Glasionomerzementen und dessen Aufnahme in Zahnschmelz in Gegenwart von Speichel. Biomaterialien 5(1): 86-87

**Schiffner** U, Schmeiser R. (1995) Eine Methode zur bakteriellen Erzeugung von Wurzelkaries in einer künstlichen Mundhöhle. Dtsch Zahnärztl Z 50: 45-48

**Seppä** L, Salmenkivi S, Forss H. (1992) Enamel and plaque fluoride following glass ionomer application in vivo. Caries Res 26:340-4

**Seppä** L, Forss H, Øgaard B. (1993) The effect of fluoride application on fluoride release and the antibacterial action of glass ionomers. J Dent Res 72: 1310-14.

**Seppä** L. (1994) Fluoride release and effect on enamel softening by fluoride-treated and fluoride-untreated glass ionomer specimens. Caries Res 28:406-408

**Sheiham** A, Maizels J, Cushing A, Holmes J. (1985) Dental attendance and dental status. Community Dent Oral Epidemiol 13: 304-309

**Sidhu** SK, Soh G, Henderson LJ. (1991) Effect of dentin age on effectiveness of dentin bonding agents Oper Dent 16:218-222

**Silverstone** LM. (1967) Observation in the dark zone in early enamel caries and artificial carieslike lesion. Caries Res 1: 261-74

**Sissons** CH, Cutress TW, Pearce EIF. (1985) Kinetics and product stoichiometry of ureolysis by human salivary bacteria and artificial mouth plaques. Archs oral Biol 30:781-790

**Sissons** CH, Cutress TW, Hoffman MP, Wakefield JS. (1991) A multistation dental plaque microcosm (artificial mouth) for the study of plaque growth, metabolism, pH, and mineralization. J Dent Res 70:1409-16

**Sissons** CH, Wong L, Cutress TW. (1995) Patterns and rates of growth of microcosm dental plaque biofilms. Oral Microbiol Immunol 10:160-7.

**Staeble** HJ, Hickel R. (1998) Stellungnahme der Hochschullehrer für Zahnerhaltung und der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung (**DGZ**) zum routinemäßigen Einsatz von Seitenzahn-Komposit-Füllungen in Deutschland. Zahnärztl Mitt 88 (9):48 (1080)

[http://goz.lzk-sachsen.de/hinweise/kons/stellungnahme\\_der\\_dgz.html](http://goz.lzk-sachsen.de/hinweise/kons/stellungnahme_der_dgz.html)

**Strübig** W. (1988) Fluoridaufnahme im Zahnschmelz aus Glasionomer-zementen. Dtsch Zahnärztl Z 43:789-791

**Swift** EJ, Perdigao J, Heymann HO. (1995) Bonding to enamel and dentin: A brief history and state of the art, 1995. Quintessence Int 26(2):95-110.

**Tagami** J, Tao L, Pashley DH. (1990) Correlation among dentin depth, permeability, and bond strength of adhesive resins. Dent Mater 6:45-50

**Tanaka** M, Kadoma Y. (2000) Comparative Reduction of Enamel Demineralization by Calcium and Phosphate in vitro. Caries Res 34:241-245.

**Tang** G, Yip H-K, Cutress TW, Samaranayake LP. (2003) Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review J Dent 31:161-71

**Ten Cate** JM, Duijsters PPE. (1982) Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. Caries Res 16:201-210

**Ten Cate** JM, Simons YM. (1989) PH cycling : a useful technique now being automated. Caries Res 23:114-115

**Ten Cate** JM. (1990) In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralisation. J Dent Res 69 : 614-19

**Ten, Cate** J. M., van Duinen, R. N. B. (1995) Hypermineralization of dentinal lesions adjacent to glass-ionomer restorations. J Dent Res 74: 1266

**Ten Cate** JM. (1999) Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. Acta Odontol Scand 57:325-9

**Ten Cate** JM, Van Loveren C. (1999) Fluoride mechanisms. Dental Clinics North America 43:713-42

**Terashima** S, Watanabe M, Kurosaki N, Kono A. (1969) Hardness of dentine remaining after clinical excavation of soft dentine. Jpn J Conserv Dent 11:115-120

**Tjan** AH, Bergh BH, Lidner C (1992) Effect of various incremental techniques on the marginal adaptation of class II composite resin restorations. J Prosthet Dent 67(1):62-6

- Thonemann B, Federlin M, Schmalz G, Hiller K-A. (1995)** Kunststoffausquellung bei Kavitätenrändern im Dentin. Dtsch Zahnärztl Z 50:847-850
- Tomes J. (1897)** Dental surgery. London: Churchill; (zytiert: Tang et al.2003)
- Tsanidis, V., Koulourides, T. (1992)** An in vitro model for assessment of fluoride uptake from glass-ionomer cements by dentine and its effect on acid resistance. J Dent Res 71: 7-12
- Türkün SL. (2003)** Clinical evaluation of a self-etching and a one-bottle adhesive system at two years. J Dent 31:527-34
- Türkün LS. (2004)** Clinical Performance of a New Antibacterial Adhesive System at 18-months J Dent Res (Abstracts Istanbul) #0226
- Türkün LS. (2005)** The clinical performance of one- and two-step self-etching adhesive systems at one year. J Am Dent Assoc 136:656-664
- Türkün M, Türkün LS, Ergücü Z, Ateş M. (2006)** Is an antibacterial adhesive system more effective than cavity disinfectants? Am J Dent. 19(3):166-70
- Van Houte J (1980).** Bacterial specificity in the etiology of dental caries. Int Dent J 30:305-326.
- Wandera A. (1998)** In vitro enamel effects of a resin-modified glass-ionomer: fluoride uptake and resistance to demineralization. Pediatr Dent 20:411-417
- Waschinski C. (2007)** Synthese, Charakterisierung und Untersuchung der Wirksamkeitsparameter bakterizider Poly(oxazoline) und damit modifizierter Polymernetzwerke. Inauguraldissertation der Fakultät für Chemie, Pharmazie und Geowissenschaften der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i.Br.
- Wendt SL, Mc Innes PM, Dickinson GL. (1992)** The effect of thermocycling in microleakage analysis. Dent Mater 8:181-184
- Wilson AD, Kent BE. (1972)** A new translucent cement for dentistry: the glassionomer cement. Br Dent J 132:133-135
- Wilson NF, Burke FJ, Mjör IA. (1997)** Reasons for placement and replacement of restorations of direct restorative materials by a selected group of practitioners in the United Kingdom. Quintessence Int 28: 245-248
- Zavareh FA. And Yazdizadeh M. (2008)** Comparison of Conventional Caries Detection and Caries Detector Dye. Res J of Biol. Sciences 3(9): 1067-69

## 10. Anhang

### 10.1 Tabellen Anhang

#### 10.1.1 Tabellen zum Kapitel 5.2

Tabelle 10.1a

<b>Gruppenstatistiken / Messungen direkt an Füllungsändern</b>					
	Zeit in Wochen	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
delta Z	6	16	3521,5862	2784,12539	696,03135
	8	16	4559,6625	3225,50400	806,37600
Lt (in mm)	6	16	,6113	,39665	,09916
	8	16	,7112	,47331	,11833

Tabelle 10.1b

<b>Gruppenstatistiken / Entfernung vom Füllungsrand 40 µm</b>					
	Zeit in Wochen	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
delta Z	6	16	3365,2131	2284,89707	571,22427
	8	16	4144,6194	2414,72955	603,68239
Lt (in mm)	6	16	,7294	,33601	,08400
	8	16	,7412	,40699	,10175

Tabelle 10.1c

<b>Gruppenstatistiken / Entfernung vom Füllungsrand 80 µm</b>					
	Zeit in Wochen	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
delta Z	6	16	3285,5987	1741,74188	435,43547
	8	16	3723,8281	1910,50138	477,62535
Lt (in mm)	6	16	,8056	,29289	,07322
	8	16	,7394	,32773	,08193

Tabelle 10.1d

<b>Gruppenstatistiken / Entfernung vom Füllungsrand 120 µm</b>					
	Zeit in Wochen	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler des Mittelwertes
delta Z	6	16	3649,7744	1695,69640	423,92410
	8	16	2864,8288	770,84958	192,71240
Lt (in mm)	6	16	,8069	,33553	,08388
	8	16	,6988	,19809	,04952

### 10.1.2 Tabellen zum Kapitel zum Abschnitt 6.2.1.2

Tabelle 10.1.2a

Probe Nr.	Restaurationsmaterial	Gruppe	Zeit in Wochen	delta Z	Lt (in mm)
1	Fuji IX	W <sub>1</sub> <sup>6</sup>	6	1295,17	0,23
2	Fuji IX	W <sub>1</sub> <sup>6</sup>	6	1039,96	0,21
3	Fuji IX	W <sub>1</sub> <sup>6</sup>	6	1964,63	0,24
4	Fuji IX	W <sub>1</sub> <sup>6</sup>	6	2121,05	0,27

5	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^6_1$	6	9011,81	1,37
6	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^6_1$	6	11433,19	1,54
7	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^6_1$	6	3033,55	0,86
8	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^6_1$	6	3362,49	0,47
9	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	2283,68	0,52
10	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	2743,32	0,56
11	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	2269,98	0,5
12	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	2578,92	0,73
13	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	2556,41	0,35
14	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	2713,81	0,46
15	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	3196,49	0,49
16	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^6_1$	6	4740,92	0,98
17	Fuji IX	$W^8_1$	8	1251,99	0,23
18	Fuji IX	$W^8_1$	8	1032,39	0,23
19	Fuji IX	$W^8_1$	8	1258,61	0,24
20	Fuji IX	$W^8_1$	8	1185,13	0,23
21	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^8_1$	8	10250,74	1,52
22	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^8_1$	8	10543,13	1,5
23	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^8_1$	8	8830,03	1,36
24	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W^8_1$	8	8277,92	1,37
25	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	4161,94	0,67
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	4069,55	0,66
27	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	2562,42	0,41
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	4102,74	0,58
29	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	2627	0,39
30	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	5122,71	0,9
31	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	3363,22	0,49
32	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W^8_1$	8	4315,08	0,6

Tabelle 10.1.2b

Probe Nr.	Restaurationsmaterial	Gruppe	Zeit in Wochen	delta Z	Lt (in mm)
1	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	1490,37	0,25
2	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	1361,69	0,31
3	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2049,66	0,56
4	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2455,08	0,37
5	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	7425,3	1,35
6	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	10013,73	1,45
7	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2898,99	0,84
8	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	3088,45	0,97
9	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2188,34	0,51
10	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2829,65	0,58
11	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2159,7	0,74
12	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2840,51	0,78
13	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2421,63	0,71
14	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2751,64	0,61
15	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	2952,74	0,66
16	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>6</sup>	6	4915,93	0,98
17	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	1727,74	0,32
18	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	1542,22	0,28
19	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	1421,09	0,28
20	Fuji IX	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	1547,18	0,33
21	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	9175,06	1,51
22	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	8743,52	1,46
23	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	6693,66	1,24
24	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	5119,34	1,09
25	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	4224,56	0,79
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sub>5</sub> <sup>8</sup>	8	4232,38	0,73

27	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_5^8$	8	2558,45	0,44
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_5^8$	8	4102,74	0,58
29	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_5^8$	8	2625,46	0,46
30	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_5^8$	8	5001,52	0,86
31	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_5^8$	8	3102,84	0,64
32	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_5^8$	8	4496,15	0,85

Tabelle 10.1.2c

Probe Nr.	Restaurationsmaterial	Gruppe	Zeit in Wochen	delta Z	Lt (in mm)
1	Fuji IX	$W_{10}^6$	6	1545,61	0,31
2	Fuji IX	$W_{10}^6$	6	1462,78	0,34
3	Fuji IX	$W_{10}^6$	6	2508,92	0,81
4	Fuji IX	$W_{10}^6$	6	2333,33	0,35
5	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^6$	6	5340,07	1,28
6	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^6$	6	8763,7	1,35
7	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^6$	6	2872,98	0,86
8	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^6$	6	3195,7	0,96
9	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	2642,86	0,86
10	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	2917,89	0,75
11	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	2348,3	0,74
12	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	3178,91	0,83
13	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	3020,09	0,93
14	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	2968,47	0,91
15	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	2953,09	0,68
16	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^6$	6	4516,88	0,93
17	Fuji IX	$W_{10}^8$	8	1648,53	0,36
18	Fuji IX	$W_{10}^8$	8	1994,18	0,4

19	Fuji IX	$W_{10}^8$	8	1664,3	0,3
20	Fuji IX	$W_{10}^8$	8	2057,43	0,41
21	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^8$	8	8578,98	1,38
22	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^8$	8	7153,18	1,33
23	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^8$	8	4230,45	1,05
24	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{10}^8$	8	2703,04	0,84
25	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	3918,29	0,82
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	4167,46	0,85
27	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	2682,72	0,46
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	3974,41	0,75
29	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	2718,15	0,47
30	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	4753,12	0,82
31	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	3254,23	0,76
32	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	$W_{10}^8$	8	4082,78	0,83

Tabelle 10.1.2d

Probe Nr.	Restaurationsmaterial	Gruppe	Zeit in Wochen	delta Z	Lt (in mm)
1	Fuji IX	$W_{15}^6$	6	1583,79	0,35
2	Fuji IX	$W_{15}^6$	6	1827,45	0,42
3	Fuji IX	$W_{15}^6$	6	1636,29	0,39
4	Fuji IX	$W_{15}^6$	6	2341,89	0,43
5	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{15}^6$	6	4536,82	1
6	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{15}^6$	6	7482,09	1,39
7	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{15}^6$	6	6281,23	1,4
8	Tetric Ceram / Ohne Bond	$W_{15}^6$	6	5254,92	1,18
9	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{15}^6$	6	2512,73	0,82
10	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	$W_{15}^6$	6	2930,56	0,69

11	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sup>6</sup> <sub>15</sub>	6	4028,68	0,82
12	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sup>6</sup> <sub>15</sub>	6	4040,71	0,9
13	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>6</sup> <sub>15</sub>	6	3179,51	0,96
14	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>6</sup> <sub>15</sub>	6	3282,89	0,93
15	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>6</sup> <sub>15</sub>	6	2660,36	0,54
16	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>6</sup> <sub>15</sub>	6	4816,47	0,69
17	Fuji IX	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	1719,77	0,38
18	Fuji IX	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2152,38	0,46
19	Fuji IX	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2552,42	0,73
20	Fuji IX	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2313,59	0,47
21	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	3064,61	0,91
22	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	3329,07	1,07
23	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2319,68	0,57
24	Tetric Ceram / Ohne Bond	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2055,13	0,51
25	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2195,75	0,77
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	3081,32	0,81
27	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2690,44	0,53
28	Clearfil Se Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	3830,63	0,62
29	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	2894,51	0,78
30	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	4381,81	0,92
31	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	3099,03	0,79
32	Clearfil Protect Bond / Tetric Ceram	W <sup>8</sup> <sub>15</sub>	8	4157,12	0,86

## 10.2 Die Betriebsarten von ISMATEC MPC Standard Schlauchpumpen

Pumpen nach:

<i>Total-Volumen</i>	<p>Es können in Drei unterschiedlichen dosierwerten die in Display erscheinen gewählt Werden:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Mikroliter: z.B. 12.0 <math>\mu\text{l}</math> = 12.0 <math>\mu</math></li><li>• Milliliter: z.B. 1200 ml = 1200 ml</li><li>• Liter: z.B. 12.0 l = 12.0 L (Anzeige in Liter ab 9999 ml)</li></ul>
<i>Drehzahl</i>	<p>ist in Schritten von 0.1 <math>\text{min}^{-1}</math> – 240.0 <math>\text{min}^{-1}</math> einstellbar, wobei der Drehzahl auch bei laufender Pumpe geändert werden kann</p>
<i>Fließrate</i>	<p>wird in <math>\mu\text{l}/\text{min}</math> bzw. <math>\text{ml}/\text{min}</math> angegeben. Die Fließrateneinstellung hängt von der Anzahl der Pumpenrollen und vom Schlauchinnendurchmesser ab. Je nach Bestückung können Fließraten zwischen 0.001 – 3700 <math>\text{ml}/\text{min}</math> eingestellt werden.</p> <p>Funktion „<i>Fließrate kalibrieren</i>“ Für eine möglichst präzise Fließrate können die Pumpen kalibriert werden</p>
<i>Zeit</i>	<p>Die Dosierzeit kann von 0.1 s – 999 h eingegeben werden.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Sekunden: 0.1" – 899.9" (in 0.1 s Schritten)</li><li>• Minuten: 15' – 899' (in 1 min Schritten)</li><li>• Stunden: 15 h – 999 h (in 1 h Schritten)</li></ul> <p>Wobei, Dosierzeit auch während des Dosiervorganges verändert werden kann.</p> <p>Bei dieser Funktion können zusätzlich die folgenden Werte abgelesen werden:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Drehzahl (PUMP rpm)</li><li>• Fließrate (PUMP Flow rate)</li><li>• total gefördertes Volumen (TOTAL)</li></ul> <p>Drehzahl und Fließrate kann dabei während des</p>

Dosiervorganges verändert werden.

### *Volumen*

eingeben von gewünschten Dosiervolumen sind in Drei unterschiedlichen werten möglich:

Mikroliter: z.B. 12.5 µl = 12.5 µ

Milliliter: z.B. 230.5 ml = 230.5

Liter: z.B. 12.5 Liter = 12.5 L

(Anzeige in Liter ab 9999 ml)

Dosiervolumen und Drehzahl kann auch während des Dosiervorganges verändert werden.

Funktion „*Volumen kalibrieren*“

Für eine präzise Dosierung können die Pumpen Kalibriert werden (richtige Auswahl der Pumpenrollen und der Schläuche ist auch hier die Voraussetzung).

### *Volumendosierung in einer Zeiteinheit*

gewünschte Zeit (0.1 s – 999 h) (es wird auf Funktion „*Pumpen nach Zeit*“ zurückgegriffen) und gewünschtes Volumen in ml eingegeben werden. Die Pumpe dosiert nun das gewünschte Volumen innerhalb der vorgegebenen Zeit. Unkorrekte Angaben werden in Display als „Fehlermeldung“ angezeigt:

9999 = Volumen zu groß Zeit zu kurz

1111 = Volumen zu klein Zeit zu lang

### *Intervall-Dosieren (Zeiteinheit)*

erlaubt das repetitive Dosieren nach Zeit mit vorgegebener Pausenzeit. Es werden Pausenzeit (0.1 s- 999 h) und Dosierzeit (0.1 s – 999 h) separat eingegeben. Pumpe dosiert nun in Intervallen, bis wieder RUN/STOP Taste gedrückt wird.

Während des Dosiervorganges können folgenden Werte abgelesen werden:

- Drehzahl (PUMP rpm)\*
- Fließrate (PUMP Flow rate)\*
- total gefördertes Volumen (TOTAL)

Die Drehzahl und Fließrate ebenso wie Dosierzeit selbst können auch während des Dosiervorganges verändert werden. Für eine möglichst präzise Fließrate kann auf die Funktion „*Fließrate kalibrieren*“ zurückgegriffen werden.

*Intervall-Dosieren  
(Volumen)*

erlaubt das repetitive Dosieren nach Volumen mit vorgegebener Pausenzeit. Pausenzeit (0.1 s – 999 h) und gewünschte Volumen werden eingegeben. Die Pumpe dosiert nun in Intervallen, bis wieder RUN/STOP Taste gedrückt wird.

Während des Dosiervorganges können folgenden Werte abgelesen werden:

- Drehzahl (PUMP rpm)\*
- Fließrate (PUMP Flow rate)\*
- total gefördertes Volumen (TOTAL)

Die Drehzahl und Fließrate ebenso wie Dosiervolumen selbst können auch während des Dosiervorganges verändert werden. Für eine präzise Dosierung können das Volumen mit Funktion „*Volumen kalibrieren*“ Kalibriert werden.

*Anzahl  
Dosierzyklen*

Beim Dosieren in Intervallen (nach Zeit bzw. Volumen) kann die Anzahl Dosierzyklen vorgegeben werden.

Es wird zwischen folgenden Modulen gewählt:

- DISP Time/Pause
- DISP Volume/Pause

und die Anzahl der gewünschten Dosierzyklen eingegeben. Während den Pausen wird noch verbleibende Anzahl der Dosierungen in Display angezeigt. Es kann auch die verbleibende Pausenzeit abgefragt werden. Die Intervall-Dosierung kann mittels RUN/STOP-Taste jederzeit unterbrochen werden; bei Neustart wird mit der verbleibenden Zahl Dosierzyklen weitergefahren.

*Tropfenfreies  
Dosieren*

Beim Verwendung von FMI Pumpenkopf, können in Betriebsarten *Dosieren nach Volumen, Volumendosierung in einer Zeiteinheit, Intervall-Dosieren (Volumen)*, Rollen-/Hubrückschritte (1 – 100 Schritte bzw. Hübe) aktiviert werden.

*Pumpen  
gegen Druck*

Die MCP Standard kann im Dauerbetrieb bis max. 1.5 bar Differenzdruck eingesetzt werden. Je nach Pumpenkopf und Schlauchdurchmesser (kleinere Durchmesser) kann kurzzeitig auch gegen einen höheren Druck gepumpt werden.

### 10.3 Bilderanhang (*Verwendete Restaurationsmaterialien*)





#### 10.4 Abkürzungen

Abb.	Abbildung
GIZ	Glasionomerzement
HGIZ	Hochviskose Glasionomerzement
KGIZ	Kunststoffmodifizierte Glasionomerzement
MDP	(10-Methacrylat-oxydecyl Dehydrogenphosphat)
MDPB	(12-Methacryloyloxydodecylpyridiniumbromid)
Ø	Diameter
Lt	Läsionstiefe
µCT	Mikrokomputertomography

## 11. Danksagung

*Herzlich möchte ich mich bei meinem wissenschaftlichen Lehrer und Doktorvater Herrn Professor Dr. K-H Kunzelmann bedanken, der mir dieses interessante Thema überlassen und es mir ermöglicht hat, diese Dissertation zu erstellen. Ohne dessen Geduld, Verständnis und Ermutigung in für mich schwierigen Zeiten sowie ohne die gewährte Unterstützung wäre diese Arbeit sicherlich nicht zustande gekommen.*

*Der nächste Dank gilt Herrn Professor Dr. R. Hickel für die Annahme meiner Bewerberschrift und die Erlaubnis in der Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der LMU-München zu arbeiten.*

*Bei Frau Dr. K. Huth möchte ich mich bedanken für die zur Verfügung gestellten Bakterienkulturen. Frau Dr. biol. M. Qwirling danke ich besonders für die freundliche Unterstützung bei den bakteriologischen Fragen und für die Bereitschaft zur Lösung auftretender Probleme in diesem Bereich. In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei Frau Dr. B. Meier und Professor Dr. N. Krämer (Abteilung für Zahnerhaltung und Parodontologie der Universität Erlangen) für die wertvollen Hinweise und für den herzlichen Empfang in Erlangen bedanken.*

*Bei meiner Kollegin Frau Dr. T. Clementino Luedemann mochte ich mich herzlich bedanken für die erste Einleitung und gewährte Unterstützung bei der Auswertungsdurchführung am  $\mu$ CT.*

*Herrn Dipl.-Ing. Th. Obermeier danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Klärung sämtlicher aufgetretener EDV-Probleme.*

*Herrn Dr. K. El-Mahdy danke ich dafür, dass er uns die Räumlichkeiten und Geräte bei der Erstellung der Proben immer bereitwillig zur Verfügung gestellt hat.*

*Bei Herrn Dr. Chem. Wenzel (PettenkoferInstitut, LMU-München) und seinem Team möchte ich mich für die Unterstützung während der Herstellung sämtlicher Basislösungen bedanken.*

*Ebenso danke ich Frau E. Köbele für die freundliche Unterstützung während des experimentellen Teils dieser Arbeit.*

*Mein herzlicher Dank gilt Frau G. Dachs und Frau K. Schunn für die geleistete Hilfe und Erstellung der Fotos.*

*Vielen Dank auch an Frau Dr. Dipl. Ing. N. Ilie für die hilfreichen Tipps und oftmals motivierende Unterstützung.*

*Herzlichen Dank Herrn M. Pfirrmann (Klinikum Groshadern, LMU-München) für seine Unterstützung und geduldige Beantwortung meiner Fragen während der statistischen Analyse. In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei Frau. C. Obolashvili bedanken.*

*Ich bedanke mich vielmals bei allen Kolleginnen und Kollegen der Klinik für Zahnerhaltung und Parodontologie der LMU-München, die mich auf unterschiedlichste Art und Weise unterstützt haben.*

*Weiterhin möchte ich mich bei meinen guten Freunden und Ratgebern Arnulf von dall` Armi und Ekaterina von dall` Armi liebend bedanken für die jederzeit gewährte Unterstützung.*

*Schließlich möchte ich meiner wunderbaren Mutter Tamar Tsotsoria herzlich danken für ihr großes Verständnis und ihren unermüdlichen Beistand während meiner Ausbildung und auch sonst jederzeit.*

*Dank geht auch an Rita Karpfinger, die mir wie eine zweite deutsche Mutti immer die Hand gereicht hat.*